

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTE À
UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PAR
JEAN LACOURSIÈRE

ÉTUDE DES PRINCIPAUX FACTEURS INFLUENCANT
LA PATHOGÉNÉCITÉ DE Bacillus thuringiensis SÉROVARIÉTÉ israelensis
ENVERS LES LARVES DE MOUCHES NOIRES (DIPTERES: SIMULIIDAE)

JUILLET 1984

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	i
SOMMAIRE	v
REMERCIEMENTS	vii
LISTE DES TABLEAUX	ix
LISTE DES FIGURES	xi
LISTE DES ABRÉVIATIONS	xx
CHAPITRE I INTRODUCTION	1
I.1 CYCLE VITAL DES SIMULIIDAE	2
I.1.1 LA LARVE	2
I.1.2 LA NYMPHE	3
I.1.3 L'ADULTE	5
I.1.3.1 CATÉGORIES PHYSIOLOGIQUES CHEZ LES MOUCHES	

	NOIRES	6
I.1.4	L'OEUF	7
I.2	LE VOLTINISME CHEZ LA MOUCHE NOIRE	8
I.3	IMPORTANCE ÉCONOMIQUE DES SIMULIIDAE	9
I.4	PRINCIPAUX ENNEMIS DES LARVES DE MOUCHE NOIRE . .	12
I.5	LE CONTRÔLE DE LA MOUCHE NOIRE	13
I.6	LE <u>BACILLUS THURINGIENSIS</u>	17
I.6.1	LE <u>BACILLUS THURINGIENSIS</u> VARIÉTÉ <u>ISRAELENSIS</u> .	20
CHAPITRE II	MATÉRIELS ET MÉTHODES	29
II.1	COLLECTION DES LARVES DE SIMULIIDAE	29
II.2	MAINTIEN DES LARVES DE MOUCHE NOIRE EN LABORATOIRE	30
II.2.1	DESCRIPTION DU SYSTÈME DE MAINTENANCE	31
II.2.2	MAINTIEN DES LARVES DE MOUCHE NOIRE	34
II.3	SYSTÈME DE TRAITEMENT INSECTICIDE EN LABORATOIRE (BIOESSAI)	35
II.3.1	PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL	39
II.4	PRÉPARATION DES MILIEUX TAMPONNÉS	41
II.5	TRAITEMENTS MATHÉMATIQUES ET INFORMATIQUES UTILISÉS	42
CHAPITRE III	MISE AU POINT DES LOTS TÉMOINS	44

III.1	DÉTERMINATION DU TYPE D'EAU À UTILISER	44
III.2	TÉMOINS POUR EXPÉRIENCES SUR L'INFLUENCE DU PH DU MILIEU	49
CHAPITRE IV	RÉSULTATS ET ANALYSES	50
IV.1	EXPÉRIENCES EN LABORATOIRE	50
IV.1.1	VARIATION DU TEMPS DE CONTACT	51
IV.1.2	VARIATION DE LA CONCENTRATION	83
IV.1.3	VARIATION DU PH	105
CHAPITRE V	DISCUSSIONS	115
V.1	ANALYSE CINÉTIQUE DU PHÉNOMÈNE D'APPARITION DE LA MORTALITÉ	115
V.2	ANALYSE DU POTENTIEL LARVICIDE	140
V.3	CONSIDÉRATIONS SUR LA VARIABILITÉ DES RÉSULTATS .	151
V.4	ESSAI DE MODÉLISATION DE L'EFFET LARVICIDE	154
CHAPITRE VI	CONCLUSION GÉNÉRALES	165
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	172

ANNEXE (PLAN DU SYSTEME DE MAINTENANCE)	185
---	-----

SOMMAIRE

Les Simuliidae ou mouches noires (Diptères), sont une nuisance pour les travailleurs et les estivants. Elles sont également vecteurs potentiels de maladies humaines et animales importantes, en plus de provoquer des réactions systémiques et des problèmes physiologiques de type inflammatoire, si la densité de leur agression dépasse un certain seuil. Donc par la baisse de productivité qu'elles peuvent occasionner dans les milieux agricoles, forestiers et de loisirs, les mouches noires en plus d'être un problème sanitaire, sont rapidement devenues un problème économique.

Le potentiel larvicide du Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis (insecticide expérimental: TEKNAR) fut évalué sur deux groupes distincts de mouches noires; les espèces d'été représentées par Simulium decorum et les espèces d'hiver représentées par Prosimulium gr. mixtum. L'examen de l'influence de la température et du pH du milieu sur l'effet toxique déterminé par la concentration et le temps de contact (facteurs affectant la probabilité de rencontre entre insecticide et

individu) permet d'établir qu'un accroissement de la température engendre une augmentation de l'effet toxique, ainsi qu'une modification dans le profil de la cinétique d'apparition de la mortalité, ce dans des proportions variables suivant une zone assimilable à la température métabolique optimale. Chacun des deux groupes d'espèces réagissant de façon similaire, mais selon des zones thermiques différentes. Le problème de la comparaison de sensibilité entre espèce est soulevé. Il est aussi établi que le pH du milieu affecte l'effet toxique et modifie la cinétique d'apparition de l'intoxication. Une acidification du milieu diminuant l'effet larvicide tandis qu'une alcalinisation produit l'effet inverse; un abaissement de la température du milieu accentuant cet effet.

Il s'en suit l'élaboration d'une représentation schématique du phénomène d'intoxication, sous l'influence des divers paramètres. Suite à un essai de modélisation mathématique des différentes relations affectant le potentiel toxique du Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis (TEKNAR), il est ébauché un organigramme exposant une vue sommaire du problème bien particulier aux insecticides particuliers; ces derniers nécessitant obligatoirement une ingestion pour engendrer un effet létal. Enfin, plusieurs avenues de recherches dans le domaine du contrôle biologique des espèces pestes de mouches noires sont présentées.

REMERCIEMENTS

Le présent projet de recherches n'aurait pu être mené à terme sans le support de plusieurs personnes. Je veux d'abord remercier très sincèrement le Dr. Guy Charpentier, directeur de ce projet, pour l'intérêt soutenu qu'il a porté à cette étude, pour ces critiques pertinentes lors de la rédaction du mémoire ainsi que pour son aide financière.

Ma profonde gratitude s'adresse au Dr. Jacques Boisvert pour ses précieux conseils dans l'orientation, l'élaboration et la réalisation du projet de recherches.

Mes remerciements les plus francs vont à monsieur Christian Back, candidat au Ph.D., pour ses encouragements soutenus et pour m'avoir communiqué son enthousiasme débordant pour les études entomologiques.

Je tiens aussi à remercier le Dr. Antoine Aubin, ex-directeur du Groupe de Recherche sur les Insectes Piqueurs, pour son aide dans l'analyse statistique des données.

Je suis aussi très reconnaissant envers madame Chantal Alarie, professionnelle de recherche, ainsi qu'envers messieurs Marc Lacroix, Michel Boily et Germain Morin pour leur participation active aux travaux sur le terrain et en laboratoire.

Je remercie aussi monsieur Claude Chouinard du service de l'informatique de l'Université du Québec à Trois-Rivières et messieurs Louis Paquette et Robert Stampfler du département de mathématique, pour m'avoir facilité l'accès au traitement de texte par ordinateur. Je remercie également monsieur Pierre Brassard et les gens de l'atelier mécanique de l'Université, pour l'aide et la grande patience démontrée lors de la confection de certains montages.

Enfin, j'exprime ma profonde gratitude à mesdames Monique Dubois-Lacoursière et France Morin, pour la supervision de l'orthographe de cet ouvrage, en plus d'avoir fait preuve de beaucoup de patience et de compréhension tout au long de ce travail.

LISTE DES TABLEAUX

page

no 1	Estimé des pertes pécuniaires encourues lors d'une recrudescence des attaques de <u>Simulium luggeri</u> envers un troupeau de bovin d'élevage (1570 animaux) dans un pâturage de 3240 acres dans le nord de Kinistino, en Saskatchewan, du 29 mai au 15 octobre 1978.	11
no 2	Exemples de pathogènes transmis aux animaux par les mouches noires (Diptères; Simuliidae) au Canada.	14
no 3	Exemples de pathogènes rencontrés dans les populations de mouches noires (Diptères; Simuliidae).	15
no 4	Taux de survie chez les larves de <u>Simulium</u> (Psilozia) <u>vittatum</u> exposées à divers types d'eau à une température de 13 degrés Celsius.	46
no 5	Taux de survie chez les larves de <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> exposées à divers types d'eau à une température de 12 degrés Celsius.	48
no 6	Temps de contact létaux (TCL) 50% et 90% et leur pente associée, pour <u>Simulium decorum</u> et <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumises à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR, à des températures de 4, 8 et 12 degrés Celsius, aux différentes heures d'observation.	74

no 7	Concentrations létales (DL) 50% et 90% et leur pente associée, pour <u>Simulium decorum</u> et <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumises à un temps de contact de 1800 secondes, à des températures de 4, 8, 12 et 18 degrés Celsius, aux différentes heures d'observation.	95
no 8	Variation de la période au terme de laquelle il s'est produit 50% de mortalité (HL50%) chez les larves de <u>Simulium decorum</u> et <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumises à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR, en fonction des différents temps de contact, à 4, 8, 12 et 18 degrés Celsius.	118
no 9	Variation de la période au terme de laquelle il s'est produit 50% de mortalité (HL50%) chez les larves de <u>Simulium decorum</u> et <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumises à un temps de contact de 1800 secondes, en fonction des différentes concentrations de TEKNAR, à 4, 8 et 12 degrés Celsius.	125
no 10	Valeurs des différents Q10, calculées à partir des "temps minima" obtenus lors de l'étude des variations du temps de contact et de la concentration.	132
no 11	Influence du pH du milieu sur la période au terme de laquelle il s'est produit 50% de mortalité (HL50%) chez les larves de <u>Simulium decorum</u> soumises à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 4 et 12 degrés Celsius.	136
no 12	Influence du pH sur le pourcentage de mortalité chez les larves de <u>Simulium decorum</u> soumises à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 4 et 12 degrés Celsius et à une concentration de 4 mg/L de TEKNAR à une température de 12 degrés Celsius.	145

LISTE DES FIGURES

	page
no 1 Cycle vital de la mouche noire (Diptères; Simuliidae).....	4
no 2 Schématisation du cycle de croissance du <u>Bacillus thuringiensis</u>	19
no 3a Système de maintenance pour larves de mouches noires; vue d'ensemble du système.....	32
no 3b Système de maintenance pour larves de mouches noires; système de distribution d'air comprimé.....	32
no 4a Système de traitement insecticide en laboratoire; bécher de 600 ml équipé de son difuseur d'air comprimé.....	37
no 4b Système de traitement insecticide en laboratoire; vue d'ensemble du système.....	37
no 5 Paramètres analysés lors de l'étude du phénomène de toxicité du <u>Bacillus thuringiensis</u> sérovariété <u>israelensis</u> (TEKNAR) envers les larves de mouches noires (Diptères; Simuliidae).....	52

LISTE DES FIGURES

page

no 6	Paramètres sélectionnés lors de l'analyse de l'effet du temps de contact sur le potentiel larvicide du <u>Bacillus thuringiensis</u> sérovariété <u>israelensis</u>	53
no 7a	Effet de la variation du temps de contact sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Simulium decorum</u> soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 4 degrés Celsius.	55
no 7b	Effet de la variation du temps de contact sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Simulium decorum</u> soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 8 degrés Celsius.	56
no 7c	Effet de la variation du temps de contact sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Simulium decorum</u> soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 12 degrés Celsius.	57
no 8a	Effet de la variation du temps de contact sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 4 degrés Celsius.	58
no 8b	Effet de la variation du temps de contact sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 8 degrés Celsius.	59
no 8c	Effet de la variation du temps de contact sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 12 degrés Celsius.	60
no 9	Effet de la variation du temps de contact sur la mortalité chez <u>Simulium decorum</u> soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 4 degrés Celsius, aux différentes heures d'observation.	62

LISTE DES FIGURES

page

- no 10a Courbe sigmoïde asymétrique caractéristique
représentant la relation existant entre le pourcentage
de mortalité et le temps de contact..... 64

- no 10b Courbe sigmoïde symétrique caractéristique
représentant la relation existant entre le pourcentage
de mortalité et le logarithme du temps de contact..... 65

- no 10c Courbe caractéristique représentant la relation
existant entre le probit du pourcentage de mortalité
et le logarithme du temps de contact..... 66

- no 11a Relation existant entre le pourcentage de mortalité et
le logarithme du temps de contact (analyse Probit)
chez Simulium decorum soumise à une concentration de
400 mg/L de TEKNAR à une température de 4 degrés
Celsius, aux différentes heures de lecture..... 68

- no 11b Relation existant entre le pourcentage de mortalité et
le logarithme du temps de contact (analyse Probit)
chez Simulium decorum soumise à une concentration de
400 mg/L de TEKNAR à une température de 8 degrés
Celsius, aux différentes heures de lecture..... 69

- no 11c Relation existant entre le pourcentage de mortalité et
le logarithme du temps de contact (analyse Probit)
chez Simulium decorum soumise à une concentration de
400 mg/L de TEKNAR à une température de 12 degrés
Celsius, aux différentes heures de lecture..... 70

- no 12a Relation existant entre le pourcentage de mortalité et
le logarithme du temps de contact (analyse Probit)
chez Prosimulium gr. mixtum soumise à une
concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température
de 4 degrés Celsius, aux différentes heures de
lecture..... 71

- no 12b Relation existant entre le pourcentage de mortalité et
le logarithme du temps de contact (analyse Probit)
chez Prosimulium gr. mixtum soumise à une
concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température
de 8 degrés Celsius, aux différentes heures de

lecture.....	72
no 12c Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme du temps de contact (analyse Probit) chez <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 12 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.....	73
no 13 Effet d'une variation de la température sur la relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme du temps de contact (analyse Probit) chez <u>Simulium decorum</u> soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR, observée après une période de 24 heures.....	76
no 14a Représentation schématique de la "susceptibilité relative" à concentration, température et heure de lecture identiques: "susceptibilité relative" élevée.....	76
no 14b Représentation schématique de la "susceptibilité relative" à concentration, température et heure de lecture identiques: "susceptibilité relative" faible (où l'espèce en fig. 14a est plus "susceptible" "relativement" à l'espèce en fig. 14b).....	78
no 15 Effet d'une variation de la température sur la moyenne des pentes exprimant la relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme du temps de contact (analyse Probit) pour <u>Simulium decorum</u> et <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumises à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR, observée après une période de 24 heures.....	80
no 16 Relation existant entre la température, le logarithme népérien du temps de contact létal 50% (TCL50%) et le logarithme népérien de l'heure de lecture chez <u>Simulium decorum</u> soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR.....	82
no 17 Paramètres sélectionnés lors de l'analyse de l'effet de la concentration sur le potentiel larvicide du	

	<u>Bacillus thuringiensis</u> sérovariété <u>israelensis</u>	84
no 18a	Effet de la variation de la concentration sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Simulium decorum</u> soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 4 degrés Celsius.....	86
no 18b	Effet de la variation de la concentration sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Simulium decorum</u> soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 8 degrés Celsius.....	87
no 18c	Effet de la variation de la concentration sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Simulium decorum</u> soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 12 degrés Celsius.....	88
no 18d	Effet de la variation de la concentration sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Simulium decorum</u> soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 18 degrés Celsius.....	89
no 19a	Effet de la variation de la concentration sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 4 degrés Celsius.....	90
no 19b	Effet de la variation de la concentration sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 8 degrés Celsius.....	91
no 19c	Effet de la variation de la concentration sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 12 degrés Celsius.....	92
no 20a	Relation existant entre le pourcentage de mortalité et	

LISTE DES FIGURES

page

	le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez <u>Simulium decorum</u> soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 4 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.....	96
no 20b	Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez <u>Simulium decorum</u> soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 8 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.....	97
no 20c	Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez <u>Simulium decorum</u> soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 12 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.....	98
no 20d	Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez <u>Simulium decorum</u> soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 18 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.	
no 21a	Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 4 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.....	99
no 21b	Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 8 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.....	100
no 21c	Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 12 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.....	101
no 22	Effet d'une variation de la température sur la	

	relation existant entre le Probit du taux de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez <u>Simulium decorum</u> soumise à un temps de contact de 1800 secondes, observée après une période de 24 heures.....	104
no 23	Paramètres sélectionnés lors de l'analyse de l'effet du pH sur le potentiel larvicide du <u>Bacillus thuringiensis</u> sérovariété <u>israelensis</u>	107
no 24a	Effet d'une variation du pH du milieu sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Simulium decorum</u> soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 4 degrés Celsius, observée après une période de 24 heures.....	108
no 24b	Effet d'une variation du pH du milieu sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Simulium decorum</u> soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 12 degrés Celsius, observée après une période de 24 heures.....	109
no 24c	Effet d'une variation du pH du milieu sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez <u>Simulium decorum</u> soumise à une concentration de 4 mg/L de TEKNAR à une température de 12 degrés Celsius, observée après une période de 24 heures.....	110
no 25	Relation existant entre le pourcentage de mortalité, la température et le pH du milieu chez <u>Simulium decorum</u> , observée après une période de 24 heures.....	112
no 26a	Relation existant entre la période au terme de laquelle il s'est produit 50% de mortalité (HL50%) et le temps de contact chez les larves de <u>Simulium decorum</u> soumises à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR, à 4, 8 et 12 degrés Celsius.....	119
no 26b	Relation existant entre la période au terme de laquelle il s'est produit 50% de mortalité (HL50%) et le temps de contact chez les larves de <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumises à une concentration de 400 mg/L de	

LISTE DES FIGURES

page

TEKNAR, à 4, 8 et 12 degrés Celsius.....	120
no 27 Représentation schématique du devenir des "Unités de Capture" ingérées, dans le système digestif d'une larve de mouche noire.....	121 - 122
no 28a Relation existant entre la période au terme de laquelle il s'est produit 50% de mortalité (HL50%) et le logarithme de la concentration chez les larves de <u>Simulium decorum</u> soumises à un temps de contact de 1800 secondes, à 4, 8 et 12 degrés Celsius.....	127
no 28b Relation existant entre la période au terme de laquelle il s'est produit 50% de mortalité (HL50%) et le logarithme de la concentration chez les larves de <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> soumises à un temps de contact de 1800 secondes, à 4, 8 et 12 degrés Celsius.....	128
no 29 Influence d'une variation du pH du milieu sur la relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez les larves de <u>Simulium decorum</u> soumises à un temps de contact de 1800 secondes, à une température de 12 degrés Celsius.....	146
no 30 Suceptibilité comparée de <u>Simulium decorum</u> et <u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u> , suite à un traitement de 1800 secondes à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR, observée après une période de 12 heures à une température de 4 et 12 degrés Celsius.....	151
no 31 Représentation bidimensionnelle corrélant les paramètres concentration et temps de contact à la mortalité.....	159
no 32 Exemple d'un calcul de concentration et de temps de contact, à partir d'une droite "isodose".....	160
no 33a Représentation schématique de la relation théorique existant entre la concentration et le temps de contact en milieu fermé (bécber en laboratoire) : onde	

LISTE DES FIGURES

page

	synthétique carrée.....	163
no 33b	Représentation schématique de la relation théorique existant entre la concentration et le temps de contact en milieu ouvert (milieu lotique naturel ou artificiel): onde binomiale négative.....	163
no 34	Installation d'un système de ruisseaux synthétiques (dalles)(milieu lotique artificiel) sur la réserve St-Maurice, été 1984.....	164
no 35	Organigramme dépeignant sommairement les paramètres influençant le phénomène de toxicité d'un insecticide particulière (<u>Bacillus thuringiensis</u> sérovariété <u>israelensis</u>) envers les organismes filtreurs (larves de mouches noires: Diptères; Simuliidae).....	168

LISTE DES ABRÉVIATIONS

B.T.I. : Bacillus thuringiensis israelensis

P.m. : Prosimulium gr. mixtum

S.d. : Simulium decorum

DL : Dose Létale

TC : Temps de Contact

TCL : Temps de Contact Létal

HL : Heure de Lecture

mg/L : milligramme par litre

p.p.m. : partie par million

* : multiplicateur (x)

LISTE DES ABREVIATIONS

★★ : exposant

Pr : Probit

CHAPITRE I

INTRODUCTION

Les Simuliidae, communément appelées mouches noires (en anglais: blackflies) ou simulies, sont l'une des très nombreuses familles formant l'ordre des Diptères (sous-ordre des Nématocères, infra-ordre des Culicomorpha, superfamille des Chironomoidea). Très homogène et facilement reconnaissable, la famille des Simuliidae possède une aire de distribution mondiale. On les retrouve en effet, sous toutes les latitudes, depuis Bear Island dans l'océan Arctique (mer de Scandinavie) jusque sur certaines terres désertes de la région subantartique (Crosskey, 1981). Présentement, la faune mondiale des Simuliidae est constituée d'environ 1270 espèces reconnues. Près de 150 de ces dernières se retrouvent en Amérique du Nord, représentées majoritairement par les genres Simulium et Prosimulium (Mc Cafferty, 1981). A ce jour, plus de 52 espèces de Simuliidae sont répertoriées à travers le Québec (C. Back, comm. pers. +); ce nombre sera sans doute augmenté au fur et à mesure que les études cytotoxonomiques progresseront (Rothfels, 1981).

I.1 CYCLE VITAL DES SIMULIIDAE

La mouche noire est un insecte caractéristique des eaux courantes. Sa croissance comporte quatre stades: oeuf, larve, nymphe et adulte. Les trois premiers stades, dit stades immatures, sont restreints au milieu lotique (figure #1).

I.1.1 LA LARVE

La larve de Simulie se fixe aux rochers et à la végétation, habituellement aux endroits où le courant est rapide. Sa forme générale est celle d'une massue dont la partie renflée correspond à l'extrémité abdominale. Le corps d'un gris ou d'un brun verdâtre se compose de huit segments abdominaux, de trois segments thoraciques et d'une tête cylindrique bien chitinisée. Aux pièces buccales complètes, typiquement broyeuses, s'adjoint pour la grande majorité des espèces, une paire d'organe post-antennaires qui donne à la larve son aspect si caractéristique: les plumeaux céphaliques. Ceux-ci sont constitués de fines ramifications sclérifiées déployées en forme d'éventail, formant ainsi un appareil de filtration. Les rayons et les microtriches constituant le plumeau céphalique sont recouverts d'un fin mucus produit par deux larges glandes situées dans le labre, et possiblement deux petites glandes à la base des maxilles (Ross et Craig, 1980). Cette mucosubstance permet la capture de particules d'un diamètre inférieur à

+ C. Back, Groupe de Recherche sur les Insectes Piqueurs (G.R.I.P.),
Département de Chimie-Biologie, Université du Québec à
Trois-Rivières.

35 microns, distance moyenne la plus étroite entre les rayons d'un plumeau céphalique complètement étalé (Ross et Craig, 1980).

La soie qu'elle utilise presque continuellement, en partie pour sa locomotion, est sécrétée par une paire de volumineuses glandes labiales qui occupent une grande partie de l'abdomen. La fixation et la locomotion sont assurées par deux pseudopodes garnis de crochets, l'un porté à la face ventrale du prothorax, l'autre à l'extrémité de l'abdomen (Grenier, 1949). Elle s'alimente principalement par filtration de particules microscopiques (0,091 à 350 microns); colloïdes, plancton et détritits qu'elle prélève du cours d'eau (Ross et Craig, 1980; Colbo et Wotton, 1981).

Elle se développe par mues successives, délimitant généralement de 6 à 9 stades larvaires, selon l'espèce (Colbo et Wotton, 1981). La période de croissance peut s'étendre de quelques jours à plusieurs mois selon la température de l'eau, la nourriture disponible et l'espèce (Jamnback, 1973, 1981).

I.1.2 LA NYMPHE

Arrivée au terme de son développement, la larve se tisse sur le support un cocon de fils de soie, dont la forme est semblable, mais caractéristique pour chacune des espèces. Dans ce demi-cocon cône,

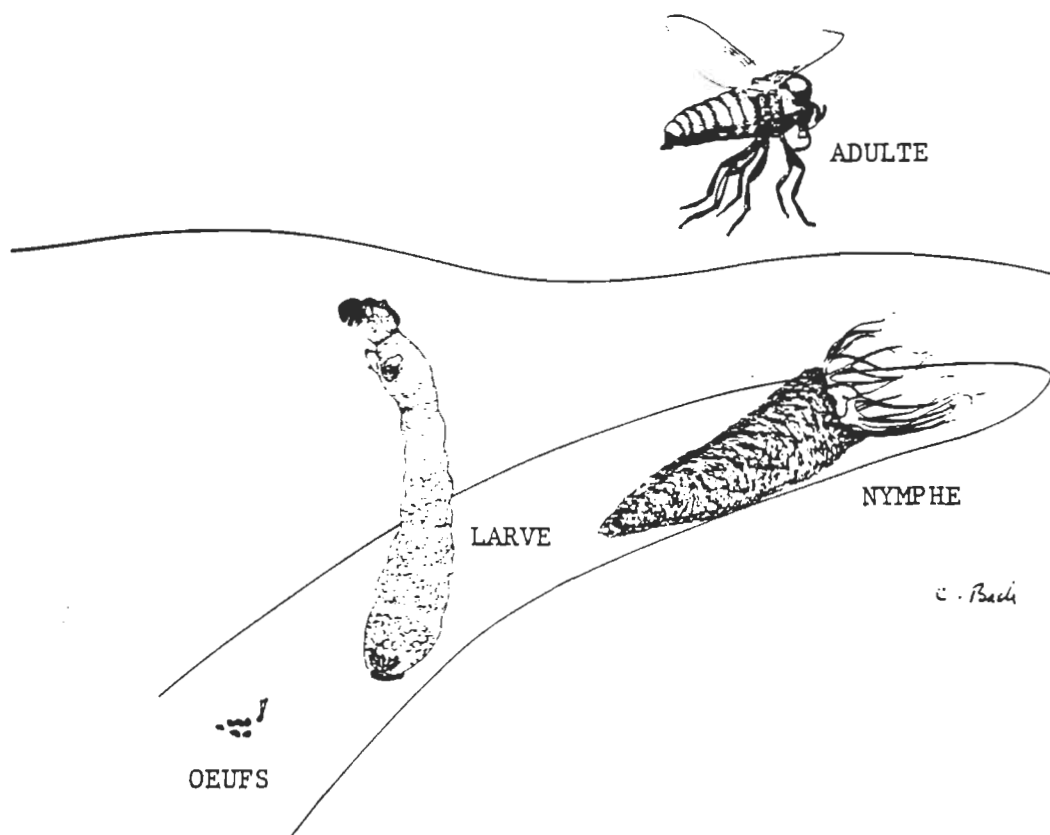


Figure no 1 Cycle vital de la mouche noire (Diptères; Simuliidae).

bien clos du côté opposé au courant et seulement fermé par un réseau très lâche à l'autre extrémité, la larve subit sa dernière mue. Elle s'enfonce ensuite dans cet abri auquel elle s'accroche au moyen de forts crampons chitineux situés sous les segments abdominaux, pour y subir une métamorphose complète (Grenier, 1949; Peterson, 1981). La nymphe, maintenant munie de ses longs filaments respiratoires si caractéristiques, complète généralement sa métamorphose en quelques jours. Puis l'adulte émerge, passant de la vie aquatique à la vie aérienne; propulsé à la surface, enrobé d'une fine bulle d'air (Wenk, 1981).

I.1.3 L'ADULTE

Les premiers adultes à émerger sont généralement les mâles. Ils demeurent dans les environs du site d'émergence et attendent les femelles, avec lesquelles ils s'accouplent presque immédiatement (Colbo et Wotton, 1981). D'une grosseur d'environ 1,2 à 5,5 mm, les adultes possèdent une constitution assez robuste. Pattes et antennes courtes, thorax arrondi et bombé, ailes trapues, ils sont ordinairement de couleur noire, mais peuvent à l'occasion revêtir des teintes plus pâles, comme l'orangé, le jaune et le vert (Mc Cafferty, 1981). Les pièces buccales sont courtes et celles de certaines femelles sont très robustes, adaptées à couper la peau et à sucer le sang. Cependant, chez d'autres, elles sont plus faibles et comme celles de tous les mâles, ne conviennent qu'à la prise de nectar (Peterson, 1978; Wenk, 1981).

I.1.3.1 CATÉGORIES PHYSIOLOGIQUES CHEZ LES MOUCHES NOIRES

Les espèces de Simuliidae se regroupent en trois catégories physiologiques, basées sur le besoin nutritionnel de la femelle nécessaire au développement et à la maturation de leurs oeufs (Davies, 1978). La première catégorie regroupe les espèces dont les femelles possèdent des pièces buccales réduites, et qui sont incapables de se nourrir de sang. Elles utilisent l'énergie des réserves accumulées lors des stades larvaires, pour compléter leur seul et unique cycle gonotrophique; ce sont les espèces autogènes. Lors de l'émergence de ces femelles, les oeufs portés sont à maturité ou presque, elles s'accouplent donc immédiatement et pondent le plus souvent quelques temps après (Davies, 1978).

Les espèces de deuxième catégorie regroupent les femelles possédant des pièces buccales adaptées pour piquer, mais qui ordinairement produisent leur premier lot d'oeufs sans repas sanguin. Ces femelles sont donc autogènes pour leur premier cycle gonotrophique. Elles ont cependant besoin d'un repas sanguin pour compléter les cycles subséquents. Ces femelles dites autogènes facultatives ou anautogènes facultatives, après copulation, demeurent à l'abri dans la végétation riveraine pour une durée de 3 à 4 jours, jusqu'à maturation des oeufs. Par la suite elles pondent et s'envolent à la recherche d'un repas sanguin (Davies, 1978).

Les espèces de la dernière catégorie, regroupent les femelles qui ont absolument besoin d'un repas sanguin pour la production et la maturation de leurs oeufs. Ce sont les espèces anautogènes. Ces dernières peuvent passer de un à deux jours à s'accoupler et à se nourrir de nectar avant de trouver un hôte. La digestion et l'oogenèse peuvent prendre, dépendant de la température, de 3 à 8 jours (Davies, 1978).

I.1.4 L'OEUF

La majorité des femelles produisent de 200 à 500 oeufs lors d'un seul cycle gonotrophique. Selon l'espèce, l'oviposition peut s'effectuer de façon différente. Certaines femelles distribuent leurs oeufs sans organisation apparente, en touchant de leur abdomen la surface de l'eau durant le vol. D'autres pondent au sol, sur des surfaces humides telle une bande de végétation oscillant à la surface du cours d'eau, ou un escarpement soumis aux éclaboussures des turbulences du courant. Quelques fois, certaines femelles peuvent plonger sous l'eau et y déposer leurs oeufs (Peterson, 1981).

D'environ 0,18 à 0,46 mm de long, l'oeuf de mouche noire possède une forme assymétrique ovoïde, allant de l'aspect triangulaire à réniforme. De couleur pâle à la ponte, il fonce généralement avec l'âge et le développement embryonnaire, jusqu'à devenir d'un brun foncé (Peterson, 1981). Selon l'espèce et la température de l'eau, le temps

d'incubation peut varier de 4 à 30 jours et même plus longtemps si les oeufs de cette espèce doivent subir une diapause. La dent de l'éclosion, située sur la partie postérieure de la capsule céphalique de la larve, est visible par transparence de la coquille, lorsque la larve de premier stade est prête à éclore. Celle-ci sert à fendre l'oeuf lors de l'éclosion (Peterson, 1981).

I.2 LE VOLTINISME CHEZ LA MOUCHE NOIRE

L'étude de l'émergence des Simuliidae révèle que certaines espèces possèdent plusieurs générations par année et que d'autres n'en comptent qu'une seule. Ce sont respectivement des espèces polyvoltines et des espèces univoltines. On peut donc mettre en évidence deux groupes distincts d'espèces de Simuliidae. Après avoir éclos à l'automne ou au début de l'hiver, les larves du groupe I croissent sous le couvert de glace, pendant une période allant jusqu'à sept mois, dans une eau dont la température avoisine souvent 0 degré Celsius. Ces espèces se caractérisent donc par une diapause estivale et quelques fois automnale de l'oeuf, une croissance larvaire hivernale, une émergence printanière précoce et l'univoltinisme.

A la fin de l'automne, les espèces du groupe II sont présentes dans les cours d'eau sous forme d'oeufs en diapause qui ont été déposés aux endroits propices par les femelles de l'une ou l'autre des générations de l'été précédent. La partie active du cycle évolutif commence donc au

printemps par l'éclosion des oeufs, au moment de la fonte des neiges. Ces espèces se caractérisent donc par une diapause hivernale de l'oeuf, un développement larvaire printanier ou estival, une période d'émergence allant de la fin du printemps à l'automne et le polyvoltinisme (Back, 1977).

I.3 IMPORTANCE ÉCONOMIQUE DES SIMULIIDAE

Les familles de Simuliidae sont considérées, à juste titre, comme l'une des plus grandes pestes pour les homéothermes de multiples régions du globe. Ce sont plus précisément les femelles des espèces anautogènes strictes et facultatives qui sont responsables de cette situation. Certaines espèces ne piquent que les oiseaux contrairement à d'autres qui choisissent leur hôte au sein des mammifères, y compris l'homme. Contrairement aux moustiques qui attaquent surtout après le crépuscule, les mouches noires ne se manifestent que pendant la journée, avec un maximum d'activité à l'aube et au crépuscule. Cette dernière attaque, plus intense encore, se termine peu après le coucher du soleil, environ au moment où les moustiques commencent leurs rondes nocturnes (Fredeen, 1973).

La piqûre d'une Simulie est indolore. Elle se manifeste généralement par une marque ronde, rose, légèrement bombée provoquant une démangeaison et garnie en son centre d'une gouttelette de sang. Cette minuscule hémorragie se diffuse sous la peau et disparaît par la

suite complètement en quelques jours. On peut cependant, en se grattant à outrance, provoquer une infection cutanée secondaire sérieuse (Fredeen, 1973; Jamnback, 1973). Si une attaque est importante et prolongée, les substances injectées par les glandes salivaires de l'insecte lors de la piqûre peuvent engendrer de fortes réactions d'hypersensibilité (Fredeen, 1973; 1977). Cette maladie générale appelée quelques fois "fièvre de la mouche noire", est caractérisée par des maux de tête, de la fièvre, des nausées, en même temps qu'un gonflement et une sensibilité des ganglions du cou (Fredeen, 1973). Un homme fut hospitalisé pour une période de plusieurs mois, due à une réaction allergique comparable à la réaction d'Arthus (Fredeen, 1977). Les symptômes de toxémie se développent beaucoup plus rapidement chez les animaux. Quelques heures suivant une attaque massive de mouches noires, l'animal démontre une respiration difficile et rapide, un tremblement musculaire et la mort peut suivre en quelques heures (Fredeen, 1977; Janmback, 1973). Les Simuliidae sont donc responsables de la baisse de productivité du cheptel domestique et sauvage; par les pertes de poids, la diminution des chances de survie chez les nouveaux-nés et les phénomènes d'inhibition de la reproduction qu'elles occasionnent (Jamnback, 1973; Fredeen, 1973; 1977; C.N.R.C., 1982). A titre d'exemple, le tableau #1 expose les pertes occasionnées à un cheptel domestique lors d'une attaque massive de Simulium luggeri, dans la période du 29 Mai au 15 Octobre 1978, en Saskatchewan.

Category	Number of animals	Number affected	Type of loss	Loss per animal (\$)	Total Losses (\$)
Bulls	30	-	Fatalities	-	-
		6	Replacements	2250	13,500
		30	Supplementary feeding	25	750
Suckling Calves	700	12	Fatalities	360	4,230
		688	Unrealized weight gains	90	61,920
Cows (nursing)	700	2	Fatalities	800	1,600
		698	Unrealized weight gains	30	20,940
Cows (barren)	140	140	Unrealized weight gains	30	4,200
Veterinarian	-	266			1,660
Cost Extra riders	-	-			2,700
Total					111,590

(dans C.N.R.C.; 1982, p. 21)

Tableau no 1 Estimé des pertes pécuniaires encourues lors d'une recrudescence des attaques de Simulium luggeri envers un troupeau de bovin d'élevage (1570 animaux) dans un pâturage de 3240 acres ("James Smith") dans le nord de Kinistino, en Saskatchewan, du 29 mai au 15 octobre 1978.

Les espèces anautogènes, pouvant prendre plus d'un repas sanguin sur différents hôtes, sont donc des vecteurs potentiels de multiples maladies parasitaires (tableau #2). Elles transmettent des Nématodes, des protozoaires parasitant le système sanguin, des bactéries et des virus à une grande variété d'animaux domestiques et sauvages (Crosskey, 1973; Ritter et Feltz, 1974; Fredeen, 1977; Jamnback, 1981; C.N.R.C., 1982). En Afrique, près de 20 millions d'humains sont atteints de l'onchocercose, aussi appelé la "cécité des rivières", causée par un parasite (Onchocerca volvulus) transmis par une mouche noire, plus précisément celles du complexe Simulium damnosum (Jamnback, 1981). Elles transmettent également des arbovirus à l'homme (Ritter et Feltz, 1974).

L'importance économique des femelles de Simuliidae est difficile à estimer avec précision. Cependant, nombreux sont les auteurs qui à travers le monde relatent les pertes occasionnées par l'hyperabondance de mouches noires (Crosskey, 1973, 1981; Fredeen, 1969, 1977; Jamnback, 1973, 1981; C.N.R.C., 1982; Laird, 1978). En plus d'être un problème sanitaire, la mouche noire est rapidement devenue un problème économique.

I.4 PRINCIPAUX ENNEMIS DES LARVES DE MOUCHE NOIRE

Presque tout être vivant pouvant éventuellement se retrouver dans

le même milieu que les larves de mouche noire, est considéré comme prédateur potentiel. Cependant, la prédation exercée par la faune vertébrée et invertébrée est généralement considérée comme étant faible (Davies, 1981). Ce sont probablement les parasites, qui sous certaines conditions exercent incontestablement un contrôle naturel efficace des Simuliidae. Les organismes parasites pathogènes les plus régulièrement rencontrés dans les populations de mouches noires sont les Mermithides (nématodes) et la microsporidie (protozoaire) (Poinar Jr, 1981; Weiser et Undeen, 1981). D'autres organismes pathogènes, tels les champignons, les virus et les bactéries sont aussi présents dans les populations de Simuliidae (Laird, 1978; Weiser et Undeen, 1981) (voir tableau #3).

I.5 LE CONTRÔLE DE LA MOUCHE NOIRE

En raison du type d'habitat de croissance hautement spécifique auquel elles sont restreintes; soit l'eau courante, les larves de mouche noire sont particulièrement susceptibles à un contrôle par produits toxiques. En effet, lorsqu'un insecticide est déversé dans un cours d'eau, il est automatiquement transporté et dispersé à partir du point d'application, à travers les sites de développement, et ceci de façon naturelle par l'effet d'entraînement du courant (Jamnback, 1973). La grande concentration de larves de Simuliidae dans ce type d'habitat, ainsi que la possibilité d'y exercer un traitement très localisé, font des stades de développement larvaire une cible idéale pour appliquer un

	Pathogen	Vector	Hosts	Distribution	Reference
Virus	Blue tongue virus	Ceratopogonidae	Cattle Sheep Goats	B. C.	Artsob and spence 1979
	Epizootic hemor- rhagic	Ceratopogonidae	Wild Ungulates	Alberta	Chalmers <u>et al.</u> 1964
Protozoa	<u>Leucocytozoon</u> spp.	Simuliidae	Birds	Widespread	Fallis and Bennett 1966
	<u>Haemoproteus</u> spp.	Ceratopogonidae	Birds	Widespread	Fallis and Bennett 1966
	<u>Plasmodium</u> spp.	Culicidae	Birds	Widespread	Meyer and Bennett 1976
	<u>Trypanosoma avium</u> (complex)	Simuliidae	Waterfowl	Widespread	Desser 1977
Nematoda	<u>Dirofilaria immitis</u>	Culicidae	Dogs Coyotes	Widespread	Stocombe 1978
	<u>Dirofilaria scapiceps</u>	Culicidae	Hares	Widespread	Bartlett 1981
	<u>Dirofilaria ursi</u>	Simuliidae	Bears	Ontario	Addison 1980
	<u>Dipetalonema sprengi</u>	Culicidae	Beavers	Ontario	Addison 1980
	<u>Onchocerca stilesi</u>	Simuliidae	Cattle	Manitoba Saskatchewan	Webster <u>et al.</u> 1977
	<u>Onchocerca cervipedic</u>	Simuliidae	Moose	Alberta	Pledger <u>et al.</u> 1979
	<u>Chandlerella chitwoodae</u>	Ceratopogonidae	Birds	Ontario	Bartlett and Anderson 1980
	<u>Ornithofilaria</u>	Simuliidae	Birds	Ontario	Anderson 1956

(dans C.N.R.C.; 1982, p. 64)

Tableau no 2 Exemples de pathogènes transmis aux animaux par les
mouches noires (Diptères; Simuliidae) au Canada.

Pathogen	Stage infected	Pathogen	Laboratory cultured	Experimentally transmitted	Results
Iridescent virus	larva	●	-	-	
Densonucleosis virus	larva	?	-	-	
Cytoplasmic polyhedrosis virus	larva	●	-	●	
<u>Bacillus thuringiensis</u> (Lepidopteran serotype)	larva	●	●	●	Dosage required impratically hight
<u>Bacillus thuringiensis</u> var. <u>israelensis</u>	larva	●	●	●	1-minute dosage of 10 sp/ml 100 % mortality
Bacterial (unidentified)	larva adult	●	●	-	Found in laboratory-reared adults and field collected larvae.
Trichomycetes	larva	-	●	●	
<u>Coetomycidium simuli</u>	larva	●	●	●	
Saprolegniaceae	larva	●	●	●	Not know whether these are obligate pathogens of blackfly larvae.
<u>Aspergillus</u>	larva adult	●	-	-	
<u>Entomophththora</u>	adult	●	●	-	
Ovarian phycomycetes	adult	●	-	-	Prevents egg production
Microsporidi	larva	●	-	-	
Ciliata	adult	?	-	-	
Gregarinidi	larva	●	-	-	
<u>Haplosporidium simuli</u>	larva	?	-	-	

(dans Weiser et Undeen; 1981)

Tableau no 3 Exemples de pathogènes rencontrés dans les populations de mouches noires (Diptères; Simuliidae).

contrôle efficace des populations de mouches noires.

Antérieurement à l'application du DDT, les moyens proposés et employés pour leur contrôle, étaient le plus souvent hautement toxiques pour la faune et la flore non-cible. Ainsi, l'utilisation d'émulsion huileuse, de kérosène, de détergent, d'acide, de pyréthrine et de composés contenant de l'arsenic rendait possible le contrôle des populations pestes de mouches noires, mais d'une façon peu avantageuse (Jamnback, 1973, 1981). Un contrôle efficace débuta avec l'utilisation du DDT, et se poursuivit avec la mise au point de substituts beaucoup plus sélectifs; les organophosphorés, principalement le téméphos et le méthoxychlore (Jamnback, 1981). L'apparition de phénomènes de résistance à ces produits au sein des diverses populations de Simuliidae stimula fortement la recherche de nouveaux moyens de contrôle (Jamnback, 1973; Laird, 1978; Guillet et al., 1980). Depuis quelques temps, l'utilisation de certains parasites tels les microsporidies, les mermithides et certains champignons semblent des moyens très prometteurs de contrôle des Simuliidae (Laird, 1978; Poinar Jr, 1981; Weiser et Undeen, 1981). Cependant, à court terme, c'est sans conteste la bactérie Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis, avec son spectre d'action très étroit et sa grande facilité de production industrielle, qui semble l'arme la plus efficace et la moins nocive pour l'environnement, en ce qui concerne le contrôle des populations pestes de mouches noires (Weiser et Undeen, 1981; Gaugler et Finney, 1982).

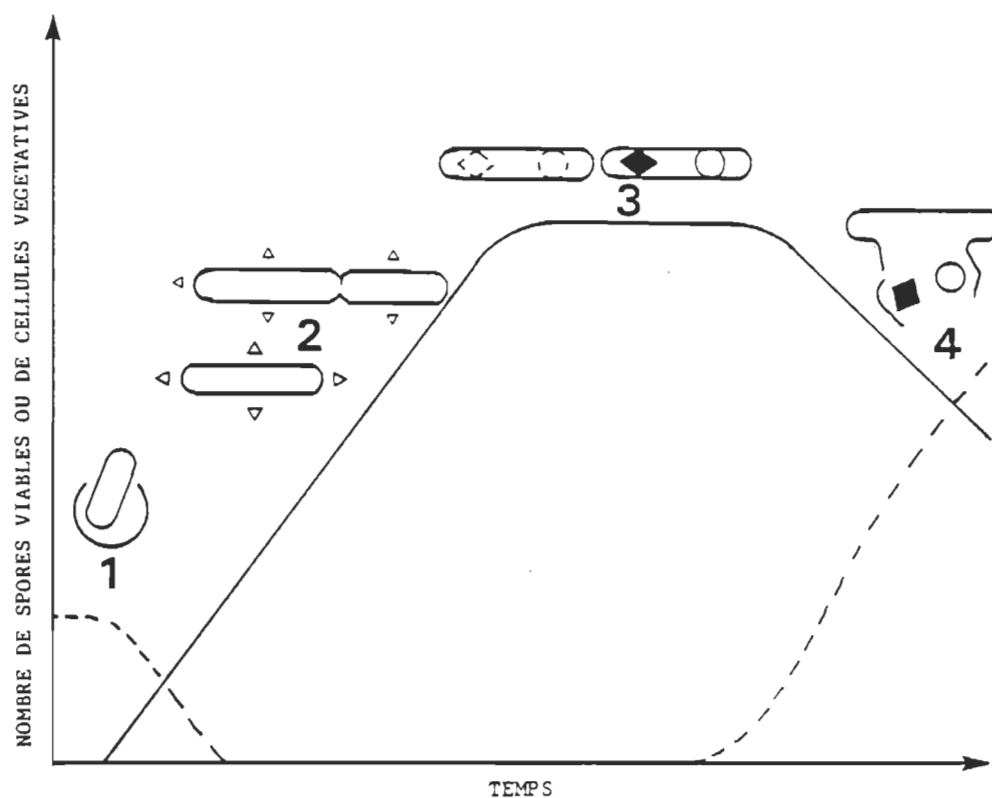
I.6 LE BACILLUS THURINGIENSIS

Les premières observations sur l'isolement d'une bactérie sporulante à partir d'insectes morts ou moribonds, furent effectuées au Japon en 1902, sur le ver à soie (Bombyx mori). Quelques temps plus tard, il fut établi que cette bactérie était l'une des variétés de Bacillus thuringiensis, espèce décrite par Berliner en 1915. Depuis, plusieurs autres variétés furent isolées. En se basant sur les caractéristiques biochimiques et les antigènes du flagelle de cette bactérie, De Barjac et Bonnefoi (De Barjac et Bonnefoi, 1962 ; Bonnefoi et De Barjac, 1963) développèrent une classification des diverses variétés ou sérotypes de Bacillus thuringiensis. En 1981, on dénombrait 22 variétés reconnues de Bacillus thuringiensis Berliner, représentant 15 sérotypes-H (Larget et de Barjac, 1981b). Récemment, plusieurs nouveaux sérotypes-H furent isolés par différents laboratoires , augmentant le nombre à plus de 19 (De Lucca II et al., 1979; Ohba et al., 1981, 1981b; Menon et al., 1982).

Bacillus thuringiensis fait partie d'un groupe de bactéries en forme de bâtonnets, aérobiques, gram positive et formant des endospores (Buchanan et Gibbons, 1974). Cette espèce se distingue de son "proche parent", le Bacillus cereus (Gordon, 1975), par son plus grand pouvoir pathogène pour les larves de lépidoptères et par sa capacité de former des inclusions parasporales que l'on qualifie habituellement de cristaux (C.N.R.C., 1977). En prenant le terme toxique dans un sens très large,

on peut identifier jusqu'à cinq constituants toxiques élaborés au cours du cycle de croissance du Bacillus thuringiensis (figure #2). Il s'agit, dans l'ordre de leur apparition: des cellules végétatives, de la (des) exoenzyme (s), de la (des) exotoxine (s), de l'endotoxine et des endospores (habituellement appelées spores). Lorsque les spores sont placées dans un milieu de croissance approprié, elles germent pour donner naissance à des cellules végétatives en forme de bâtonnets qui constituent la phase active, ou de multiplication, du cycle vital. Lors de cette phase, il y a sécrétion d'enzymes hydrolytiques (la lecithinase par exemple) qui dégradent les éléments nutritifs et favorisent ainsi leur absorption à partir du milieu. Certaines variétés sécrètent aussi des exotoxines: la B-exotoxine thermostable et la gamma-exotoxine thermolabile. Après une période de croissance très active, les cellules peuvent sporuler. Chacune d'elles produit alors une spore qui ne croît plus et qui résiste aux diverses conditions extrêmes du milieu. Chez la plupart des souches de Bacillus thuringiensis, il y a aussi synthèse simultanée d'un cristal de delta-endotoxine protéinique de forme généralement bipyramidale (Delafield et al., 1968; Somerville et al., 1970; C.N.R.C., 1977).

La grande majorité des souches identifiées de Bacillus thuringiensis sont essentiellement pathogènes pour les larves de lépidoptères (De Barjac, 1978; Lebrun et Vlayen, 1979). Ce pouvoir pathogène est le résultat de l'action de plusieurs toxines (Martouret,



- CELLULES VEGETATIVES - - - - - SPORES VIABLES
 EXOENZYMES ET EXOTOXINES LIBEREES
STADES DE CROISSANCE
 1 Germination des spores
 2 Croissance exponentielle des cellules végétatives
 3 Sporulation et formation de endotoxine
 4 Libération des spores et des cristaux de -endotoxine

Figure no 2 Schématisation du cycle de croissance du Bacillus thuringiensis.

(dans C.N.R.C.; 1982, p. 19)

1961; Heimpel, 1967), principalement la delta-endotoxine thermolabile et la bêta-exotoxine thermostable. La première constitue un des éléments majeurs de l'activité de la bactérie sur les lépidoptères, induisant la paralysie dont meurt l'insecte ayant ingéré ce cristal (Lebrun et Vlayen, 1979). Cependant, ce dernier pour libérer sa toxine sous une forme active dans le tube digestif doit subir une dégradation par divers enzymes protéolytiques, dans des conditions de pH bien précises (Lebrun et Vlayen, 1979; Larget et De Barjac, 1981). La bêta-exotoxine thermostable, spontanément produite lors de la multiplication végétative de certains sérotypes, est active aussi bien chez les lépidoptères que sur d'autres insectes, et semble t'il, pathogène pour les vertébrés (De Barjac, 1977; Frosberg, 1976; Faust, 1977). Cette toxicité est de niveau extrêmement faible si on la compare à la toxicité des principaux pesticides chimiques couramment utilisés (De Barjac, 1977; Lebrun et Vlayen, 1979).

I.6.1 LE BACILLUS THURINGIENSIS VARIÉTÉ ISRAELENSIS

Le 14 ème sérotype de Bacillus thuringiensis individualisé sous le nom de variété israelensis a été isolé par Goldberg et Margalit (1977) à partir de larves mortes et de prélèvements de boues de mares à moustiques en Israel. Cette nouvelle sous-espèce possède le même aspect commun à tous les Bacillus thuringiensis, cependant deux particularités la différencie nettement: le polymorphisme des "cristaux" (Mikkola et al., 1982; Boisvert et al., 1982) et l'absence de la bêta-exotoxine

thermostable (De Barjac, 1978). La propriété la plus remarquable de ce nouveau sérotype consiste en son extrême toxicité pour un certain nombre de familles de l'ordre des Diptères (Larget et De Barjac, 1981). Contrairement aux autres variétés de Bacillus thuringiensis, cette variété israelensis est très peu pathogène pour les lépidoptères (De Barjac, 1978; Tyrell et al., 1979).

Le potentiel de Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis comme agent de contrôle des populations larvaires de mouches noires est examiné en laboratoire depuis 1978. Bien que les systèmes de bio-essais en laboratoire ne peuvent simuler toutes les variables rencontrées en milieu naturel, ils facilitent quand même l'étude; et ce en utilisant relativement peu de larves et une petite quantité d'inoculum.

Bien que Weiser et Vánková (1979) exécutèrent leurs tests en utilisant des bassins d'eau stagnante, leurs résultats mirent en évidence la toxicité du Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis envers deux espèces de mouches noires: Odaqmia ornata Enderlien et Eusimulium latipes Roubaud. Contrairement à ces derniers, tous les autres chercheurs utilisèrent pour leurs tests en laboratoire, des systèmes tentant de simuler les conditions d'eau courante retrouvées en milieu naturel.

Undeen et Nagel (1978) démontrèrent la susceptibilité en laboratoire de Simulium verecundum, Simulium (Psilozia) vittatum, Cnephia ornithophilia, Stegopterna mutata et Prosimulium mixtum à une suspension aqueuse de Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis. Ils rapportèrent que bien qu'aucune différence significative au niveau de la susceptibilité à une exposition de 30 minutes n'apparue entre ces diverses espèces, une différence entre les mortalités fut observée suite à des expositions de 24 heures. Ces résultats, comparés à d'autres, démontrent que le Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis possède un plus grand potentiel actif contre les Simuliidae que les Culicidae testés par Goldberg et Margalit (1977), et une plus grande toxicité envers les mouches noires que d'autres souches de Bacillus thuringiensis, toxiques pour les lépidoptères testés par Lacey et Mulla (Lacey et Mulla, 1977; Gaugler et Finney, 1982). Ces résultats incitèrent Undeen et Berl (1979) à étudier la susceptibilité de Simulium damnosum s.l. Theobald, vecteur de l'onchocercose, face à ce nouvel agent de contrôle très prometteur. Ils démontrèrent la susceptibilité de cette espèce et mirent en évidence une grande différence dans les sensibilités enregistrées lors de l'utilisation d'une poudre de Bacillus thuringiensis sérovariété Israelensis obtenue de l'Institut Pasteur (84% mort suite à une exposition de 1 minute pour une concentration de $5 \times 10^{**6}$ spores/ml) et une suspension aqueuse fraîchement produite en laboratoire (99% mort suite à une exposition de 1 minute pour une concentration de $1 \times 10^{**5}$ spores/ml).

L'efficacité relative des différentes formulations de Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis fut analysée par Guillet et Escaffre (1979) et Molloy et Jamnback (1981b). Après examen de la grosseur relative des particules produites lors de la préparation des diverses formulations, ils mirent en évidence une corrélation positive entre l'efficacité et la grosseur des particules. Ainsi, la plus grande efficacité d'une formulation fut attribuée à la grosseur des agrégats formés lors du mélange.

Très peu d'études cependant, portant sur l'effet de la température sur l'efficacité du Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis. Molloy et al. (1981) démontrèrent que la température peut exercer un effet très significatif sur l'efficacité du B.t.i.. Ainsi la mortalité obtenue chez les larves de Simulium (Psilozia) vittatum traitées à 20 degrés Celsius était le double de celle observée chez les larves traitées à 10 degrés Celsius (température variant entre 18 et 20 degrés Celsius pour l'expérience notée à 20 degrés Celsius, et de 7 à 12 degrés Celsius pour l'expérience notée 10 degrés Celsius). Pour une même dose, le taux de mortalité décroît rapidement avec l'abaissement des températures: 95% de la mortalité totale obtenue à 20 degrés Celsius se produit dans les premières 24 heures d'observation, comparé à 56% pour une température de 10 degrés Celsius. Ces données corroborent les résultats obtenus par Lacey et Federici (1979), qui suivirent la progression de la mortalité causée par Bacillus thuringiensis HD-261 sur

Simulium (Psilozia) vittatum pour des températures variant de 10 degrés Celsius à 24 degrés Celsius. Ils notèrent que pour chaque augmentation de la température de l'ordre de 4 à 5 degrés Celsius, au-dessus de 15 degrés Celsius, non seulement le pourcentage de mortalité augmente, mais le même taux de mortalité survient 24 heures plus tôt. Weiser et Vařková (1979) rapportèrent aussi, que le taux de mortalité larvaire progresse beaucoup plus lentement à 4 degrés Celsius qu'à 20 degrés Celsius, sur une période d'observation de 24 heures.

Pour leur part, Frommer et al. (1980) étudièrent la relation existant entre la concentration, le temps d'exposition et l'efficacité du Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis. La susceptibilité de Simulium (Psilozia) vittatum à une poudre de B.t.i. formulée par la compagnie Abbott (no. 6406-125) fut déterminée pour des temps d'exposition de 15, 30, 60, 90, 120 minutes et 24 heures. Ils démontrèrent que la mortalité larvaire augmente avec l'accroissement de la durée du temps de contact. C'est-à-dire que la quantité de produit requise pour produire une mortalité significative, décroît lorsque l'exposition augmente de 30 à 60 minutes; un abaissement de la DL50% de 0,81 à 0.32 ppm, et de la DL90% de 1,71 à 0,81 ppm se produit lors de l'augmentation du temps d'exposition de 30 à 60 minutes. Lorsque le temps d'exposition est accru au-delà des 60 minutes, les variations observées dans les DL50% et DL90% sont très réduites; une exposition de plus de 60 minutes produit donc une faible augmentation de l'effet

larvicide (Gaugler et Finney, 1982).

La majorité des tests de sensibilité au B.t.i. utilisèrent des mouches noires à des stades larvaires avancés (6 ième et 7 ième). Toutefois, Molloy et al. (1981) rapportèrent une efficacité significativement plus élevée chez les individus de stades larvaires plus jeunes. L'exposition de larves de 2 ième au 5 ième stade de Simulium (Psilozia) vittatum à une dose de 0,3 ppm de poudre primaire Biochem (no. R153-78) engendre une mortalité de 94,4% comparativement à 45,3% pour des larves de 7 ième stade traitées dans les mêmes conditions. Les mêmes observations furent faites par Guillet et Escaffre (1979).

Bien que Undeen et Nagel (1978), et Undeen et Berl (1979) indiquèrent une faible différence de sensibilité envers le Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis pour les espèces de mouches noires observées, le groupe du docteur Molloy démontra que les derniers stades de Simulium verecundum sont plus susceptibles que ceux de Simulium (Psilozia) vittatum. La valeur des DL50% (92 ppb) et DL95% (213 ppb) de S. verecundum constitue approximativement le tiers de celles observées chez S. (Psilozia) vittatum (DL50% = 275 ppb, DL95% = 615 ppb) (Molloy et al., 1981).

Gaugler et Molloy (1980) rapportent que l'efficacité d'une toxine peut être réduite ou augmentée par perturbation du processus normal de nutrition. Cette dernière fut inhibée par exposition des larves de S. (Psilozia) vittatum à une forte concentration de particules de nourriture en suspension. Lorsque la nutrition est inhibée avant traitement au B.t.i., la mortalité larvaire est significativement réduite. Toutefois, lorsque l'inhibition de la nutrition se produit après traitement au B.t.i., la mortalité est augmentée de 90%, cela étant dû probablement au séjour plus long du cristal protéinique à l'intérieur du tractus intestinal, relâchant ainsi une plus grande quantité d'endotoxine lors de la digestion de celui-ci.

Les tests en laboratoire exécutés avec le Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis, démontrent nettement son très grand potentiel comme agent biologique de contrôle des populations de mouches noires (Gaugler et Finney, 1982).

Parallèlement à ces tests, de multiples essais de contrôle des populations de Simuliidae par le B.t.i., en milieu naturel furent exécutés (Guillet et De Barjac, 1979; Undeen et Colbo, 1980; Undeen et al., 1981; Frommer et al., 1981; Molloy et Jamnback, 1981a, 1981b; Lacey et al., 1982). Ces tests confirment généralement les résultats obtenus en laboratoire; soit l'effet de la température, de la concentration et du temps d'exposition sur l'efficacité du B.t.i..

L'intérêt du Bacillus thuringiensis variété israelensis comme agent de contrôle de la mouche noire provient non seulement de sa grande efficacité, mais aussi de son spectre d'action très étroit, limité principalement aux seuls membres des Diptères, sous-ordre des Nématocères; soit particulièrement les moustiques et les mouches noires (Gaugler et Finney, 1982). Très peu d'effets furent notés sur la faune non-cible lors d'essais en milieux naturels avec le B.t.i. , (Dejoux, 1979; Colbo et Undeen, 1980, Molloy et Jamnback, 1977, 1981a). Toutefois, une faible toxicité envers certains chironomides (une famille de Diptère, du sous-ordre des Nématocères, très apparentée aux mouches noires), fut démontrée spécialement chez les espèces utilisant la filtration comme moyen de nutrition (Sinégre et al., 1979; Engler et al., 1980; Lüthy et al., 1980; Molloy, 1983). Cependant, de récents essais sur le terrain, d'une formulation commerciale de B.t.i. (Teknar) mirent en évidence un effet significatif de cette formulation sur deux familles de Diptère: les Blépharicéridae et les Chaoboridae (sous-ordre des Nématocères)(Back et al., 1984).

Cette souche de Bacillus thuringiensis fut rapidement développée en un produit commercialisable par des compagnies possédant déjà l'expérience de la production d'agents microbiens, incluant d'autres formulations insecticides à base des diverses autres souches de Bacillus. La mise au point de nouvelles technologies de fermentation, ainsi que la similitude des procédés de production entre les diverses

souches, permirent une commercialisation très rapide comparativement à d'autres insecticides chimiques ou biologiques. Cinq ans seulement après sa découverte, le Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis se retrouve homologué dans plusieurs pays, sous une multitude de formulations. Aux Etats Unis, VECTOBAC de la compagnie Abbott, BACTIMOS de la compagnie Biochem, TEKNAR de la compagnie Sandoz et BMC de la compagnie Reuter sont les quatres plus grands noms disponibles sur le marché. Plusieurs autres formulations sont produites par quelques groupes industriels de l'Europe de l'Ouest (Institut Pasteur de France), de la République Populaire de Chine et de l'U.R.S.S. .

La venue de nouveaux insecticides biologiques contre les populations d'insectes piqueurs semble bien amorcée. De nouveaux sérotypes récemment découverts semblent prometteurs, tel le Bacillus thuringiensis variété darmstadiensis (sérotype H-10) (Padua et al., 1981; Finney et Harding, 1982) et cette nouvelle souche de B.t.: le ISPC-4, découverte dernièrement dans les larves de Culex fatigans (Menon et al., 1982).

CHAPITRE II

MATÉRIELS ET MÉTHODES

II.1 COLLECTION DES LARVES DE SIMULIIDAE

Les larves à divers stades de développement sont prélevées du gîte sur les roches, la végétation, les bouts de bois et autres objets gisant sur le lit du cours d'eau, grâce à un filet "troubleau" dans lequel ces divers substrats sont nettoyés.

Ces échantillons sont placés dans des sachets hermétiques (Whirl-Pak Bags, NASCO U.S.A.) contenant de l'eau du gîte. Les sacs sont par la suite déposés dans un contenant étanche, isolé (une glacière Coleman, Canadian Tire inc.), contenant de l'eau à la même température que celle du gîte, évitant ainsi toute fluctuation de température des échantillons. La probabilité de survie des larves décroissant rapidement après un séjour de 8 heures en eau non agitée (Tarshis, 1968), le retour au laboratoire doit s'exécuter en moins de 2 heures afin de maximiser les chances d'obtenir du matériel en excellente condition.

Les larves proviennent principalement de deux stations, dépendant des saisons et des conditions climatiques et hydrologiques qui y prévalent. Les larves d'espèce d'hiver, prélevées entre la première semaine de février et la première semaine de mai proviennent de l'effluent du lac des Souris (46 degrés 35 minutes de latitude NORD, 72 degrés 58 minutes de longitude Ouest) sit dans la municipalité de St-Mathieu du Lac, à une quarantaine de milles au nord-ouest de Trois-Rivières. La région prospectée s'étend sur 300 mètres en aval du barrage régissant le niveau du lac. Les larves d'espèces d'été, prélevées entre la première semaine de juin et la première semaine de septembre proviennent soit de la station de St-Mathieu du Lac, soit des sous-stations du domaine privé TAVIBOIS (46 degrés 44 minutes de latitude Nord, 72 degrés 40 minutes de longitude Ouest), sit dans la municipalité de St-Thimothé d'Herouxville à une cinquantaine de milles au nord-est de Trois-Rivières. Les endroits prospectés se limitent strictement au premier seuil rencontré à la tête de l'effluent, c'est-à-dire les têtes de barrages contrôlant le niveau des plans d'eau.

II.2 MAINTIEN DES LARVES DE MOUCHE NOIRE EN LABORATOIRE.

Afin de conserver dans un état physiologique maximal les larves provenant des gîtes, il fut mis au point un montage permettant de reconstituer en laboratoire les principaux paramètres régnant en milieu naturel.

La majorité des systèmes rapportés dans la littérature vise principalement l'élevage en cycle continu de la mouche noire (Raybould, 1967, 1975, 1981; Raybould et al., 1979; Brenner et Cup, 1980; Brenner et al., 1980; ; Simmons et Edman, 1981, 1982; Edman et Simmons, 1984). Le plus souvent complexes et peu manoeuvrables, ces différents appareils répondent plus ou moins bien aux exigences que l'on attend d'un système de maintenance, soit: simplicité de conception, manoeuvrabilité, facilité d'observation et d'entretien, et particulièrement, une très grande disponibilité des larves contenues dans l'appareil.

Le système élaboré suite à de nombreuses discussions entre collègues, repose principalement sur le fait que les larves de Simuliidae se retrouvent en milieux agités, fortement oxygénés (Colbo et Wotton, 1981). Une vitesse de courant de 0,05 à 1,2 mètres par seconde combinée à un minimum de turbulences est suffisante pour simuler adéquatement les vitesses des milieux naturels (Fredeen, 1959). Le courant est donc généré par diffusion d'air comprimé à travers l'eau, à la base des substrats, assurant du même coup la saturation en oxygène dissout et les turbulences nécessaires à l'homogénéisation de la répartition de la nourriture.

II.2.1 DESCRIPTION DU SYSTEME DE MAINTENANCE

L'appareil est constitué d'un réservoir rectangulaire de plexiglas transparent (figure #3a, #3b et annexe). De dimension modeste; 28 cm

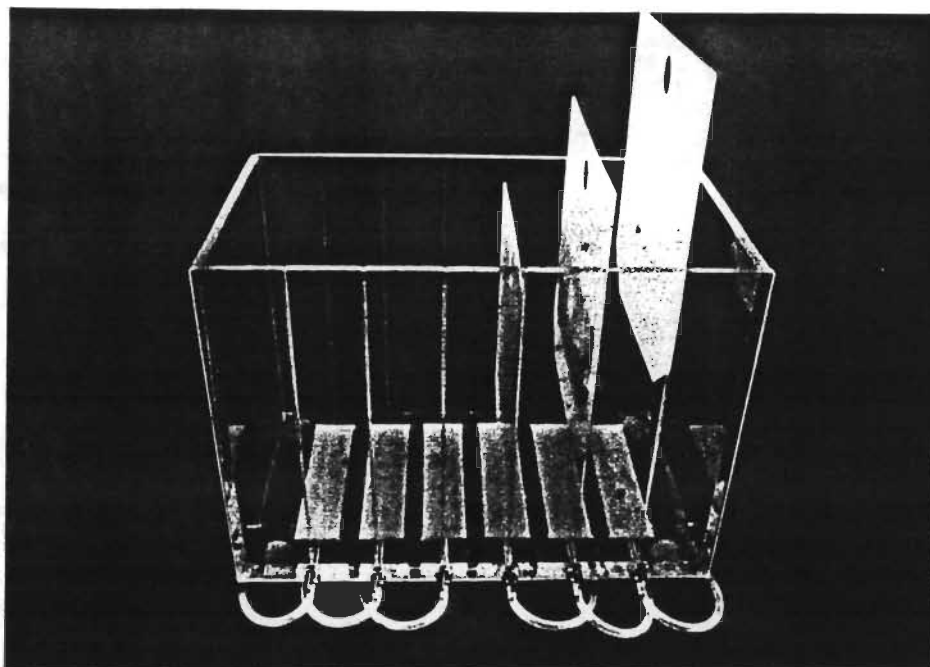


Figure no 3a Système de maintenance pour larves de mouches noires;
vue d'ensemble du système.

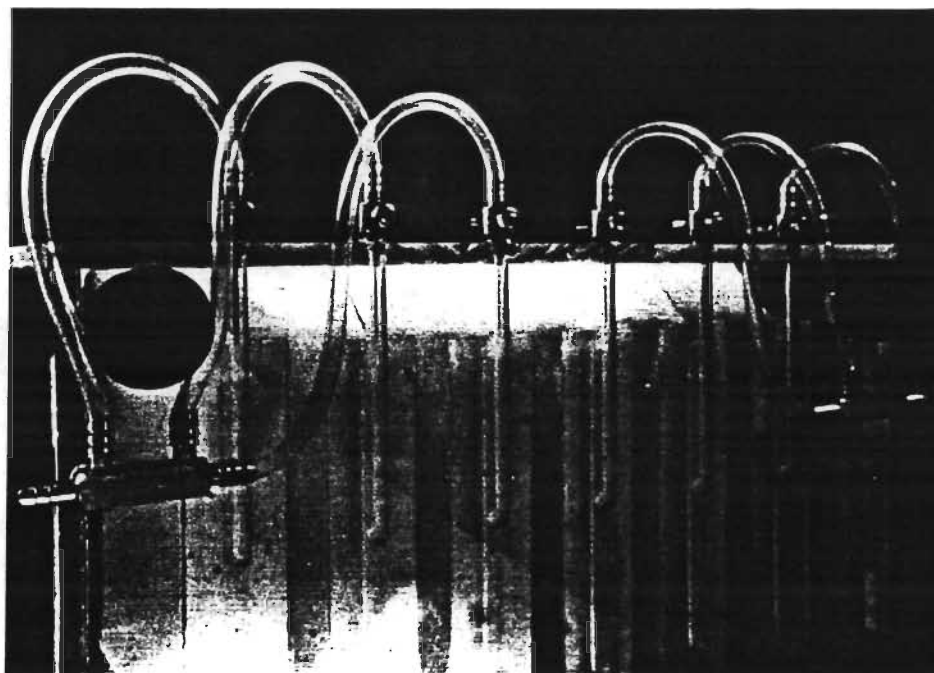


Figure no 3b Système de maintenance pour larves de mouches noires;
système de distribution d'air comprimé.

de longueur, sur 17 cm de largeur, par 20 cm de hauteur, ce récipient possède une capacité opérationnelle d'environ 6,5 litres. A l'intérieur du réservoir, une série de six plaques de plexiglas blanc de 1,5 mm d'épaisseur est placée verticalement, dans le sens de la largeur, le divisant en sept (7) sections semblables. De forme rectangulaire (16,5 cm de largeur, sur 18 cm de hauteur), ces plaques ont l'extrémité de leur base taillée en biseau, ainsi qu'un trou de 2 cm de diamètre pratiqué au centre de la partie supérieure, à 1 cm du bord. L'amovibilité de ces plaques est assurée par des rainures de 19 cm de longueur, par 1,5 mm de largeur, sur 2 mm de profondeur, pratiquées dans les parois internes du réservoir. A la base de chacune des plaques, on retrouve une double série de perforations (une série de chaque côté, séparée entre elle par 5 mm) effectuées dans une pièce rectangulaire de plexiglas de 1,5 mm d'épaisseur (2,5 cm de largeur par 11,5 cm de longueur) appliquée sur le fond du réservoir. Chaque série, d'une longueur de 10 cm est constituée de perforations de 0,25 mm de diamètre alignées à raison de une tous les 2 mm. Sous chaque pièce rectangulaire, juxtaposée à la double rangée de perforations, une rainure de 7 mm de largeur, sur 10 cm de longueur, par 2 mm de profondeur est creusée dans la face interne de la pièce de plexiglas d'environ 15 mm d'épaisseur constituant le fond du réservoir. L'air comprimé filtré est amené au centre de cette rainure par un conduit de 7 mm de diamètre perforé à même la pièce de plexiglas du fond. L'extrémité de ces conduits, localisée dans la partie inférieure frontale du réservoir, est munie

d'une valve métallique (Universal Ltd., Japon) permettant la régulation du débit de l'air. Une série de petits tubes de plastique mou (TYGON, 1/8 po ID, Fisher Scientific Compagny) alimente ces valves à partir d'un distributeur central (Universal Ltd., Japon). Le réservoir est surmonté d'un couvercle constitué d'une pièce de plexiglas rectangulaire de 7 mm d'épaisseur, perforée de 3 trous de 7 mm de diamètre également répartis assurant l'évacuation de l'air. L'assemblage des différentes parties du système fut exécuté avec du dichloroéthylène (Fisher) et du silicone (C.G.E. Canada Ltée).

II.2.2 MAINTIEN DES LARVES DE MOUCHE NOIRE

Le contenu des sacs d'échantillonnage, ainsi qu'une quantité complémentaire d'eau du gîte sont déversés dans le réservoir dès l'arrivée au laboratoire. L'appareil étant préalablement installé dans une chambre environnementale (Conviron, model 123L; Controlled Environments Ltd., Winnipeg, Canada) où la température, la photopériode et l'humidité sont contrôlées. Les paramètres maintenus à l'intérieur de cette chambre correspondent à ceux régnant en milieu naturel au moment du prélèvement. La diète alimentaire des larves se compose de moulée pour lapin (C.O.O.P.) broyée (Cupp et al., 1981) et tamisée afin d'obtenir des particules de grosseur variant entre 4 et 50 microns de diamètre (Colbo et Thompson, 1978; Brenner et al., 1980). Dépendant des conditions de turbidité régnant à l'intérieur du réservoir, l'eau est complètement changée tous les 2 ou 3 jours selon la température de

la chambre, afin de maintenir des conditions optimales de maintenance.

II.3 SYSTÈME DE TRAITEMENT INSECTICIDE EN LABORATOIRE (BIOESSAI)

Le système utilisé découle de multiples modifications apportées à la méthode dite des "JAR TESTS" (Brown et Pal, 1973 ; Jamnback, 1973; Colbo et Thompson, 1978). Les larves sont placées dans une solution aqueuse, une suspension ou une émulsion d'un produit toxique, pour un certain laps de temps, et par la suite observées dans de l'eau pure (eau distillée non déminéralisée) pour une période de 24 à 48 heures, afin de déterminer le taux de mortalité.

Le concept de base de ce système est le même que celui élaboré pour le bassin de maintenance. Le courant est généré par l'arrivée d'air comprimé dans le fond d'un béccher de 600 ml (Pyrex). Le diffuseur est constitué d'une seringue de calibre 18 G 1 1/2 (BD, Fisher) et d'un catheter en polypropylène (Pharmacia Canada Lte) de 20 cm de long perforé de petits trous, l'autre extrémité étant bouchée et lestée d'un bouchon de caoutchouc (Fisher no. 00). Le tout étant parfaitement stérilisable par passage à l'autoclave (figure #4a).

D'une capacité de 40 bécchers de 600 ml, le système est constitué premièrement d'un bassin rectangulaire (125 cm de longueur, par 65 cm de largeur, sur 37 cm de hauteur; en contre-plaqué de 20 cm d'épaisseur

) isolé extérieurement sur 5 faces (le fond et les quatres côtés) par du polystyrène en plaque de 4,5 cm d'épaisseur (figure #4b).

L'intérieur du bassin est recouvert de fibres de verre. Un robinet installé près du fond, sur l'un des panneaux latéraux, assure le remplissage et l'évacuation de l'eau. Une vitre rectangulaire (54 cm de longueur, par 12 cm de hauteur, sur 7 mm d'épaisseur) localisée sur la paroi arrière du bassin, permet l'illumination de l'intérieur du réservoir par trois lampes fluorescentes placées à l'extérieur. Une bordure de bois de 3 cm par 3 cm, placée à une distance de 12 cm du fond, ceinture les faces internes des parois. Cette bordure sert d'assise à une grille métallique faisant office de faux-fond. L'espace ainsi créé sous la grille est occupé par deux des éléments du système de thermocontrôle du bassin. Un échangeur thermique constitué de 15,5 mètres de tuyau de cuivre de 15 mm de diamètre interne, enroulé en une spirale de 14 cm de diamètre, et une pompe circulante (model 1-AA, Little Giant co., Oklahoma City, Oklahoma U.S.A.) assurent une bonne répartition thermique à l'intérieur de la masse d'eau. Les deux extrémités du tuyau de cuivre sont reliées, par deux tubes de caoutchouc mou isolés de manchon de polyuréthane mousseux (Armstrong, AF/Armaflex), à un système de bain thermostaté (Haake F3C, Fisher) situé à l'extérieur du réservoir. De l'éthylèneglycol (antigel, Canadian Tire inc.) est utilisé comme fluide échangeur thermique à l'intérieur du bain thermostaté et du serpentín de cuivre. Lorsque la température du bassin doit être abaissée à 4 degrés Celsius, un deuxième bain thermostaté est relié en parallèle au premier, permettant d'obtenir une



Figure no 4a Système de traitement insecticide en laboratoire; b cher de 600 ml équipé de son difuseur d'air comprimé.

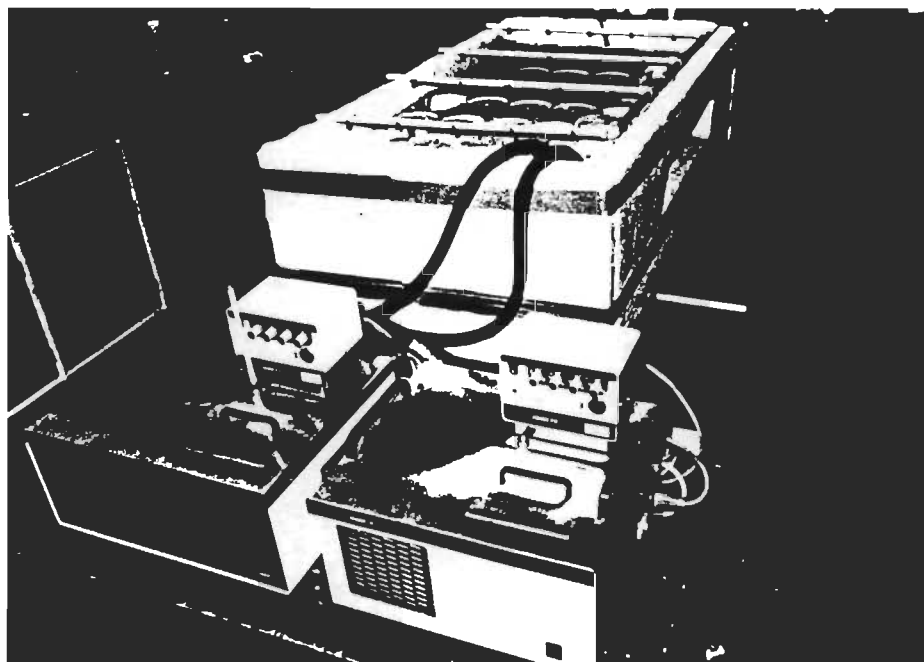


Figure no 4b Système de traitement insecticide en laboratoire; vue d'ensemble du système.

précision de plus ou moins 0,2 degrés Celsius. L'air comprimé provient du système de distribution central de l'université. Chaque laboratoire est approvisionné d'air comprimé filtré, déshumidifié et exempt d'huile. Afin de minimiser les risques de contamination, l'air est tout de même filtré (filtre MILLIPORE, 0,45 micron, monté sur support SWINNEX; Millipore, Mississauga, Ontario, Canada) avant d'être refroidi et distribué aux béchers. Le système de refroidissement est constitué d'une section de tube de cuivre de 7 mm de diamètre interne de 7 mètres, enroulé en spirale, reposant dans une glacière où l'eau à 4 degrés Celsius (provenant du robinet) circule continuellement. Postérieurement au tuyau de cuivre, une trappe à eau (constituée d'un bocal hermétiquement fermé dans lequel entre l'extrémité du tuyau de cuivre et d'où ressort l'extrémité du tuyau de distribution) empêche le passage d'éléments liquides dans un sens ou l'autre de la ligne de distribution. Chaque bécher est alimenté en air comprimé par une valve métallique (UNIVERSAL, Japon) vissée dans un tube de plastique rigide (PCV; Chlorure de polyvinyl). Chacun de ces tubes rigides comporte 10 valves, à raison de 5 de chaque côté. Fermé à une extrémité par un bouchon de caoutchouc (FICHER, no. 00), le tube est relié au système de distribution immédiatement après le système de refroidissement.

Le dessus du réservoir est isolé par du polystyrène en plaque de 4,5 cm d'épaisseur, perforée de huit rangées de 5 ouvertures chacune. Chaque ouverture de 10,5 cm de diamètre permet l'introduction d'un

bécher dans le réservoir. La section circulaire d'isolant, provenant de l'ouverture, sert de bouchon au bécher lorsqu'elle n'est pas tout simplement remise en place si cet espace n'est pas utilisé.

II.3.1 PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

La méthodologie utilisée lors des essais de toxicité du Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis (TEKNAR) en laboratoire, associe les principales caractéristiques des méthodes décrites par l'Organisation Mondiale de la Santé (Brown et Pal, 1973) et le groupe de Colbo et Thompson (1978). Le protocole expérimental se résume ainsi:

1. 500 ml d'eau distillée non déminéralisée, de même température que l'eau du système d'élevage, est placée dans des béchers de Pyrex de 600 ml.
2. 50 larves, provenant des plaques amovibles du système de maintenance, sont réparties grâce à une spatule dans chacun des béchers.
3. les béchers sont introduits dans le réservoir du système de traitement, contenant de l'eau à la température de traitement, par les orifices conçus à cet effet.

4. les diffuseurs sont raccordés au système de distribution d'air comprimé, et une période d'acclimatation de 2 à 3 heures est laissée au contenu des béciers pour permettre de stabiliser leur température à celle du réservoir.
5. suite à cette période d'acclimatation, une quantité précise de produit est ajoutée à chaque bécier. La même expérience est répétée simultanément dans une série de 5 béciers, assurant ainsi une meilleure fiabilité statistique.
6. après un certain temps de contact, les béciers sont vidés de leur eau en les renversant simplement au-dessus d'un tamis afin de récupérer d'éventuelles larves ayant décroché des parois du bécier. Suite à un rinçage utilisant 250 ml d'eau distillée non déminéralisée à la même température que celle des béciers, ces derniers sont de nouveau remplis à la graduation de 500 ml. L'opération complète n'excède pas plus de 45 secondes par bécier.
7. les béciers sont le plus rapidement possible, replacés dans le réservoir du système de traitement, afin d'éviter toute fluctuation de température.

8. dépendant de la température à laquelle se réalise le traitement, le décompte des larves mortes s'effectuera toutes les 2 ou 4 heures pendant les premières 12 heures suivant l'inoculation du produit. Pendant les 36 heures restantes, les décomptes s'effectueront à toutes les 8 heures jusqu'à 24 heures et par la suite aux 12 heures.

Une larve est considérée comme étant morte, lorsqu'elle ne réagit plus, d'aucune façon, à un stimulus (pression sur l'abdomen avec le bout arrondie d'une pipette pasteur). Les larves considérées comme mortes sont ensuite déposées à l'aide d'un compte-gouttes sur un verre-de-montre où pour une dernière fois, quelques instants après leur transfert, elle sont restimulées et déclarées officiellement mortes si aucune réaction n'est apparue. Ces dernières sont conservées dans des piluliers contenant de l'alcool 95%, pour fin d'identification. Chaque pilulier étant correctement identifié en ce qui concerne l'expérience et l'heure de la lecture. Les survivantes sont aussi conservées pour identification ultérieure. La clé d'identification utilisée lors de ces expériences est publiée dans les Mémoires de la Société Entomologique du Canada, no. 108, en 1979 (Danks ed., 1979).

II.4 PRÉPARATION DES MILIEUX TAMPONNÉS

Lors de l'étude de l'influence du pH du milieu sur le potentiel

larvicide du Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis (Teknar), les tampons utilisés sont constitués d'un mélange de HCl, 0.1M dans une solution de NaH₂PO₄, 10 mM pour les milieux acides, d'un mélange de NaH₂PO₄ et de Na₂HPO₄ pour les milieux neutres et d'un mélange de NaOH, 0.1M dans une solution de Na₂HPO₄, 10mM pour les milieux alcalins.

II.5 TRAITEMENTS MATHÉMATIQUES ET INFORMATIQUES UTILISÉS

L'une des transformations parmi les plus employées en expérimentation biologique comme en toxicologie; où les relations entre la dose et la réponse obtenue sont de type "TOUT OU RIEN" (Quantal responses); est l'analyse PROBIT (Mather, 1965; Brown et Pal, 1973; Mouchet et al., 1977; Hewlett et Plackett, 1979). Le programme informatisé effectuant cette analyse, répond à l'appellation : PROB2. Elaboré par M. Richard J. Daum (1969), ce programme établit une relation linéaire pondérée entre la mortalité exprimé en Probit et le logarithme de la "dose", en employant la "Maximum Likelihood Procedure" décrite par M. D. J. Finney en 1962 (Finney, 1971).

Quelques autres tests statistiques sont employés. La régression linéaire simple et multiple, permettant d'analyser la relation linéaire qui existent entre une variable dépendante et une ou un ensemble de variables indépendantes. Le test de T, permettant de calculer la statistique t de Student et de vérifier si deux moyennes diffèrent de façon significative. Le dernier est un programme général d'analyse

multivariée de variance et de covariance permettant la discrémiation entre divers groupes. Ces programmes répondent aux appellations REGRESSION, T TEST et MANOVA. Tous disponibles dans la banque S.P.S.S. (Stastistical Pakage for the Social Sciences)(Nie et al., 1978).

Tous ces outils de calculs et d'analyses sont exploités par le centre de calculs et d'analyses du service informatique de l'Université du Québec à Trois-Rivières.

CHAPITRE III

MISE AU POINT DES LOTS TÉMOINS

III.1 DÉTERMINATION DU TYPE D'EAU À UTILISER

Le principal problème rencontré lors de la mise au point des lots témoins fut le choix du type d'eau à utiliser. Il est essentiel lors d'expérimentations impliquant la notion de survie, d'obtenir des lots témoins possédant un taux de mortalité le plus faible possible.

La sélection fut établie parmi les différents types d'eau disponibles sur le campus de l'université, et ce, en comparant les divers taux de survie observés, à ceux obtenus lors de l'exposition de larves à une eau provenant du gîte naturel.

Les types d'eau suivants furent testés :

Eau de l'aqueduc de la ville de Trois-Rivières non-déchlorinée
et déchlorinée par aération, pendant 24 heures.

Eau déminéralisée provenant du système de distribution central du pavillon Léon Provencher (U.Q.T.R.).

Eau distillée déminéralisée provenant du laboratoire de préparations techniques en microbiologie du pavillon Léon Provencher (LP-2515).

Eau distillée non déminéralisée provenant des laboratoires de recherches en pâtes et papiers du pavillon Pierre Boucher (U.Q.T.R.).

Les résultats démontrent que dans le cas de l'espèce Simulium (Psilozia) vittatum, lors d'expériences effectuées à une température de 13 degrés Celsius (tableau #4), la survie observée après 72 heures d'exposition varie sensiblement d'un type d'eau à l'autre. Cependant la période d'expérimentation n'excédant jamais plus de 48 heures et se rapprochant le plus souvent de 24 heures, tous les types d'eau sont potentiellement utilisables. Toutefois, désirant une standardisation de nos conditions expérimentales, l'utilisation de l'eau du gîte naturel, ainsi que de l'eau provenant de l'aqueduc de Trois-Rivières fut rejetée. Ceci principalement dû au fait de la grande variation de leurs constituants suivant le lieu et le temps. La comparaison de divers résultats obtenus lors de traitements expérimentaux, implique

13° Celsius	<u>Simulium vittatum</u>	24 h.	48 h.	72 h.
Eau du gîte naturel		100 %	100 %	100 %
Eau déminéralisée		100 %	98 %	92 %
Eau distillée déminéralisée		100 %	94 %	90 %
Eau distillée non déminéralisée		100 %	100 %	92 %
Eau distillée non déminéralisée changée aux 24 heures		100 %	100 %	98 %
Eau de l'aqueduc déchlorinée		98 %	96 %	94 %

Tableau no 4 Taux de survie chez les larves de Simulium (Psilozia) vittatum exposées à divers types d'eau à une température de 13 degrés Celsius.

l'utilisation d'un type d'eau dont la composition ne variera que très faiblement d'un endroit à un autre. L'eau distillée non déminéralisée fut donc retenue, non seulement en raison des excellents résultats de survie obtenus, mais aussi dû au fait que l'on peut retrouver ce type d'eau dans presque tous les laboratoires de recherche. L'eau déminéralisée ainsi que l'eau distillée déminéralisée ne représentant qu'un deuxième choix, en raison de la mortalité qu'elles occasionnent après 48 heures d'exposition.

Advenant le cas d'une expérimentation dont la période excéderait 48 heures d'observation, il est à conseiller de changer l'eau des béciers à toutes les 24 heures. Le même type de résultats est observable chez Prosimulium gr. mixtum à 12 degrés Celsius (tableau #5).

La sélection de l'eau distillée non déminéralisée comme eau servant de support aux tests de toxicité des insecticides est en conformité avec la recommandation de l'Organisation Mondiale de la Santé; recommandation stipulant d'utiliser de l'eau pure lors des tests de sensibilité aux insecticides (Brown et Pal., 1973).

Chaque expérimentation compte au moins un lot témoin de 50 individus, permettant ainsi de s'assurer de la justesse des résultats obtenus. Aucune mortalité ne fut observée dans les lots témoins lors des

12° Celsius	<u>Prosimulium gr. mixtum</u>	24 h.	48 h.	72 h.
Eau du gîte naturel		100 %	100 %	99 %
Eau distillée non déminéralisée		100 %	99 %	91 %
Eau distillée non déminéralisée changée aux 24 heures		100 %	99 %	94 %

Tableau no 5 Taux de survie chez les larves de Prosimulium gr. mixtum exposées à divers types d'eau à une température de 12 degrés Celsius.

premières 24 heures d'expérimentation. Cependant, lorsque l'expérience devait se poursuivre pour plus de 48 heures et qu'un pourcentage de mortalité était observable dans les lots témoins, il était indiqué selon le cas, d'utiliser la formule de correction d'Abbott (Abbott's formula) (Finney, 1971). Cette formule permet de corriger les résultats obtenus en tenant compte de la mortalité des lots témoins.

III.2 TÉMOINS POUR EXPÉRIENCES SUR L'INFLUENCE DU PH DU MILIEU

Aucune mortalité ne fut observée chez les larves soumises aux différents tampons après 48 heures d'observation.

CHAPITRE IV

RÉSULTATS ET ANALYSES

IV.1 EXPÉRIENCES EN LABORATOIRE

Les expérimentations afférentes à ce projet de recherche ont été menées depuis Janvier 1982. Le protocole expérimental repose principalement sur la variation de six paramètres principaux :

1. L'espèce de mouche noire.
2. La température du milieu expérimental.
3. Le pH du milieu expérimental.
4. La concentration de l'insecticide biologique (TEKNAR).

5. Le temps d'exposition des larves au produit.

6. L'heure à laquelle s'effectue le relevé des résultats.

Le principal objectif de cette recherche est de mettre en évidence la relation existant entre le pourcentage de mortalité observé, c'est-à-dire l'efficacité du produit, la concentration de ce produit et le temps de contact entre ce dernier et les larves de mouche noire. Le tout sous l'influence de l'espèce considérée, de la température et du pH du milieu, ainsi que de la période à laquelle s'effectue le relevé des résultats (figure #5).

IV.1.1 VARIATION DU TEMPS DE CONTACT

Cette serie d'expériences fut conduite sur les deux espèces principales (Simulium decorum et Prosimulium gr. mixtum), à trois températures différentes et ce pour une concentration et un pH fixes. Les observations étant notées à divers temps suivant le début du traitement, afin de suivre la progression du phénomène de toxicité (figure #6).

Nous obtenons donc comme résultats; le nombre d'individus morts suite à ce traitement (concentration de 400 mg. de TEKNAR par litre),

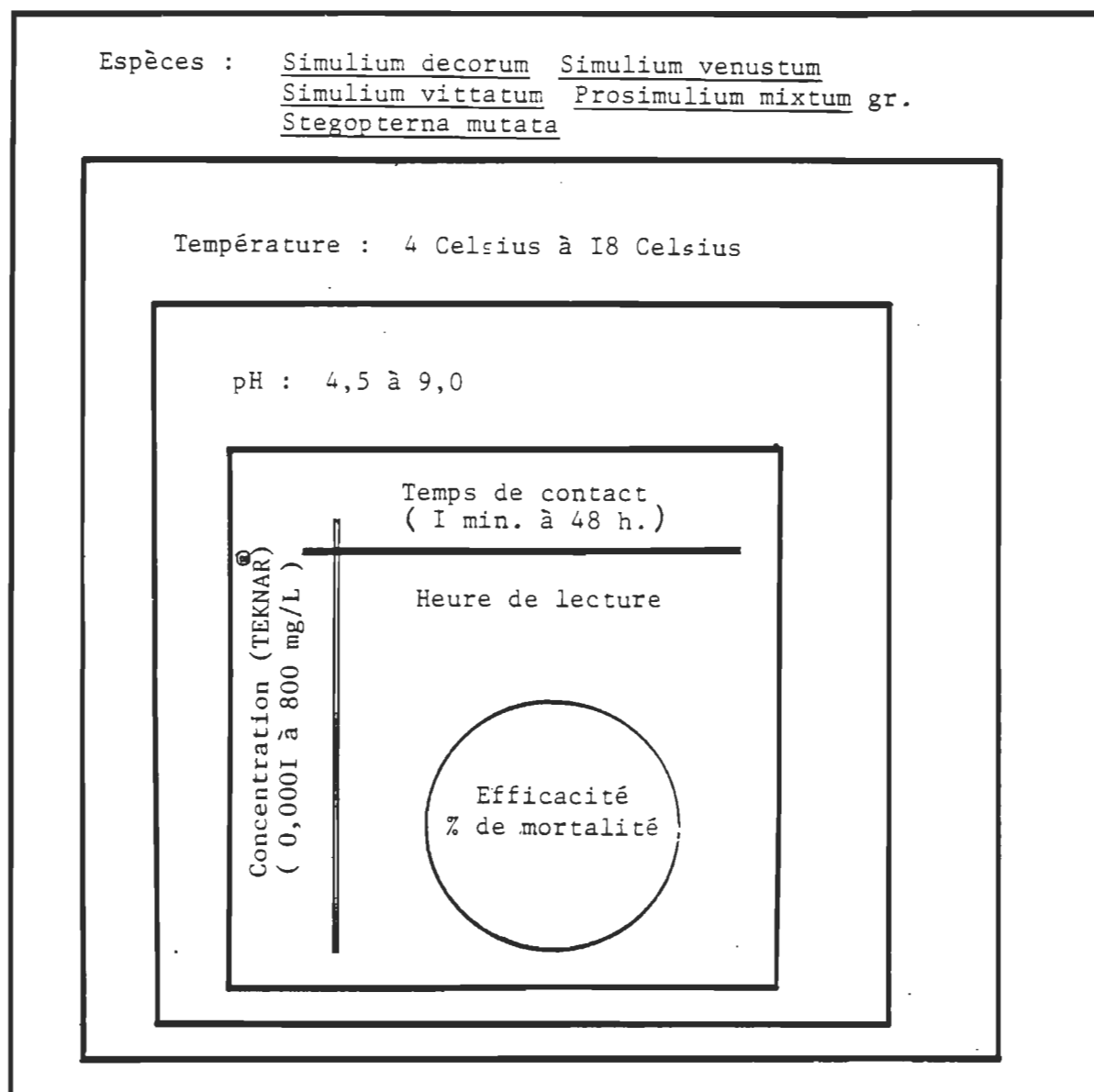


Figure no 5 Paramètres analysés lors de l'étude du phénomène de toxicité du Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis (TEKNAR) envers les larves de mouches noires (Diptères; Simuliidae).

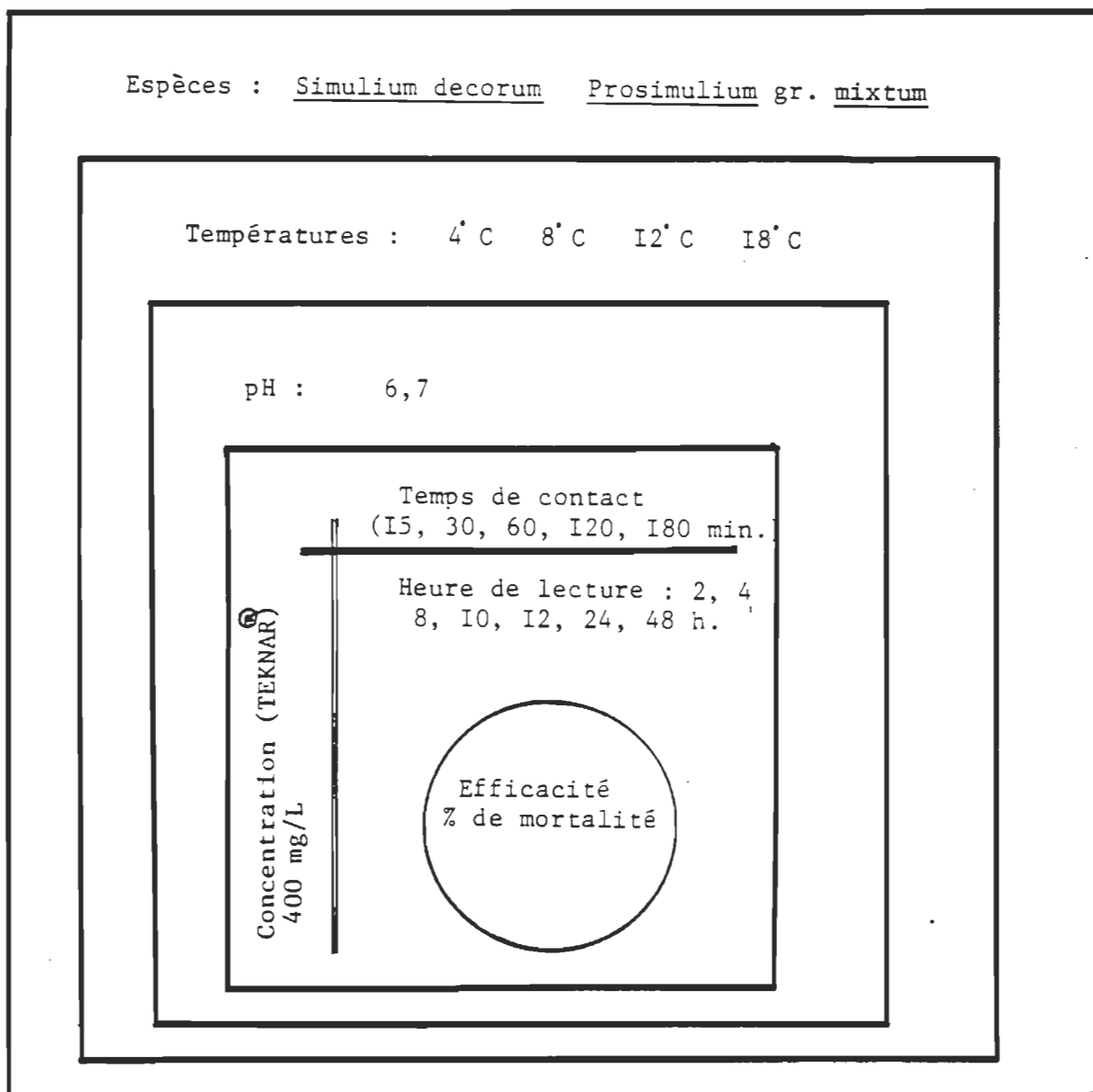


Figure no 6 Paramètres sélectionnés lors de l'analyse de l'effet du temps de contact sur le potentiel larvicide du Bacillus thuringiensis serovar israelensis.

pour tous temps de contact, à chacune des différentes heures de lecture et ce pour une espèce et une température déterminées. Ceci nous permet d'établir une série de graphiques représentant la cinétique de l'intoxication. C'est-à-dire la relation existant entre le taux de mortalité et la période de temps écoulé depuis le début de l'application d'insecticide (heure de lecture), en fonction des temps de contact sélectionnés pour toutes les espèces et les températures considérées (figures #7a, 7b, 7c et #8a, 8b, 8c). L'examen de ces graphiques permet de mettre en évidence les considérations suivantes.

Pour une concentration fixe de 400 mg. de TEKNA par litre d'eau distillée non déminéralisée, à pH 6,8, nous observons que :

1. pour tous les temps de contact utilisés, le taux de mortalité progresse en fonction du temps écoulé, jusqu'à atteindre un plateau dans la majorité des cas.
2. pour une même heure de lecture, le taux de mortalité s'accroît proportionnellement à l'augmentation du temps de contact.
3. de façon générale, un accroissement du temps de contact provoque une modification dans le profil de la cinétique, la

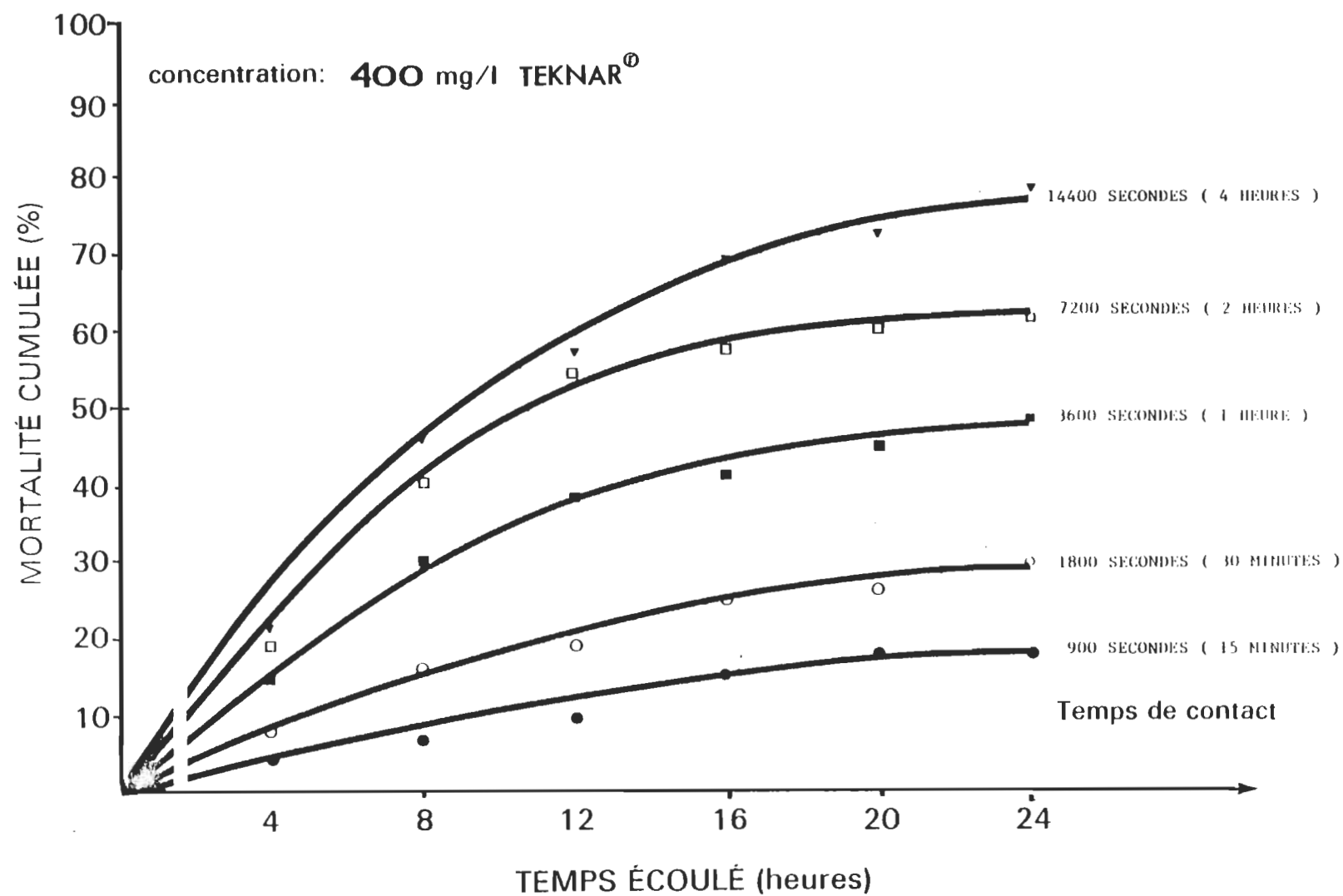


Figure no 7a Effet de la variation du temps de contact sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Simulium decorum soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 4 degrés Celsius.

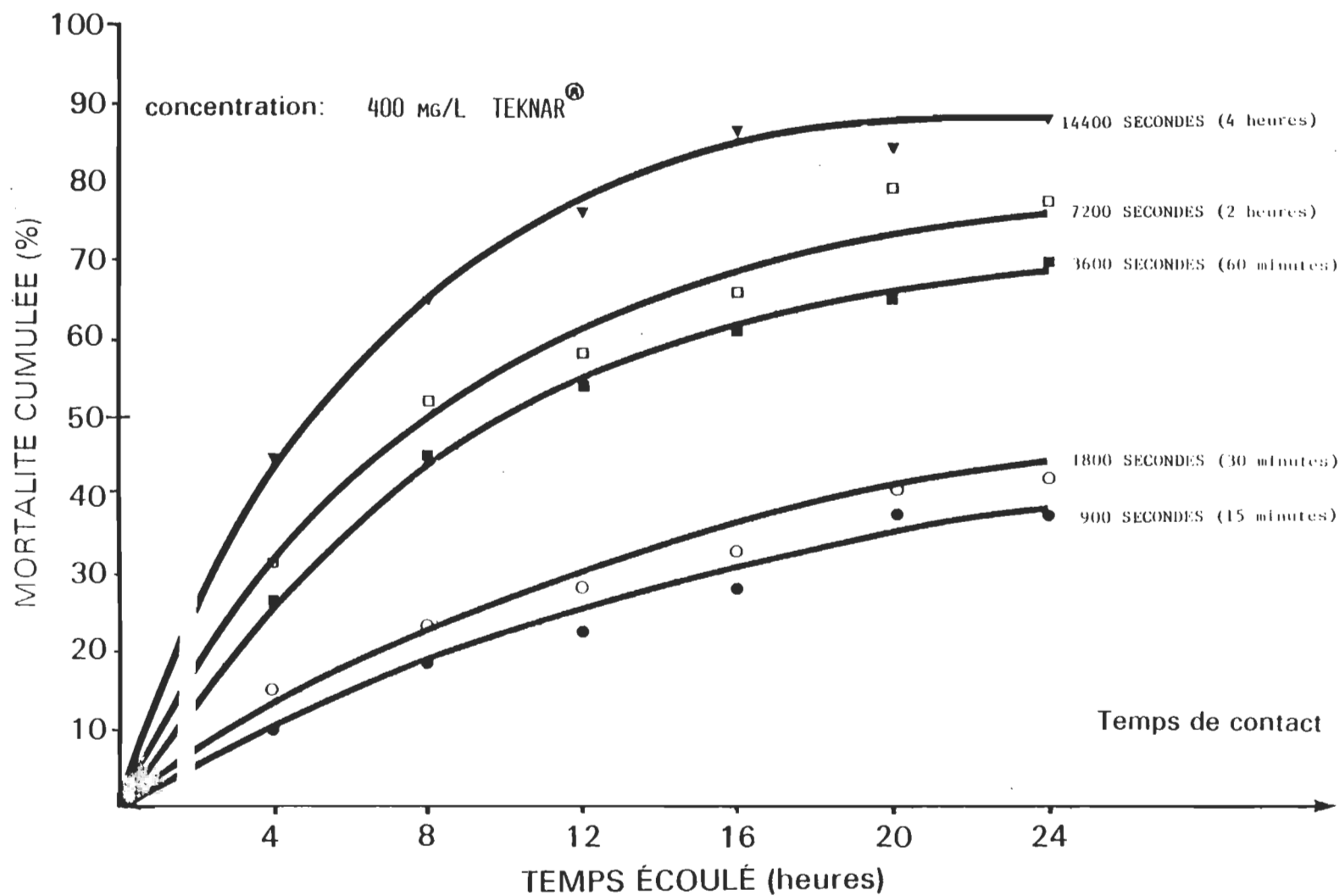


Figure no 7b Effet de la variation du temps de contact sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Simulium decorum soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNA® à une température de 8 degrés Celsius.

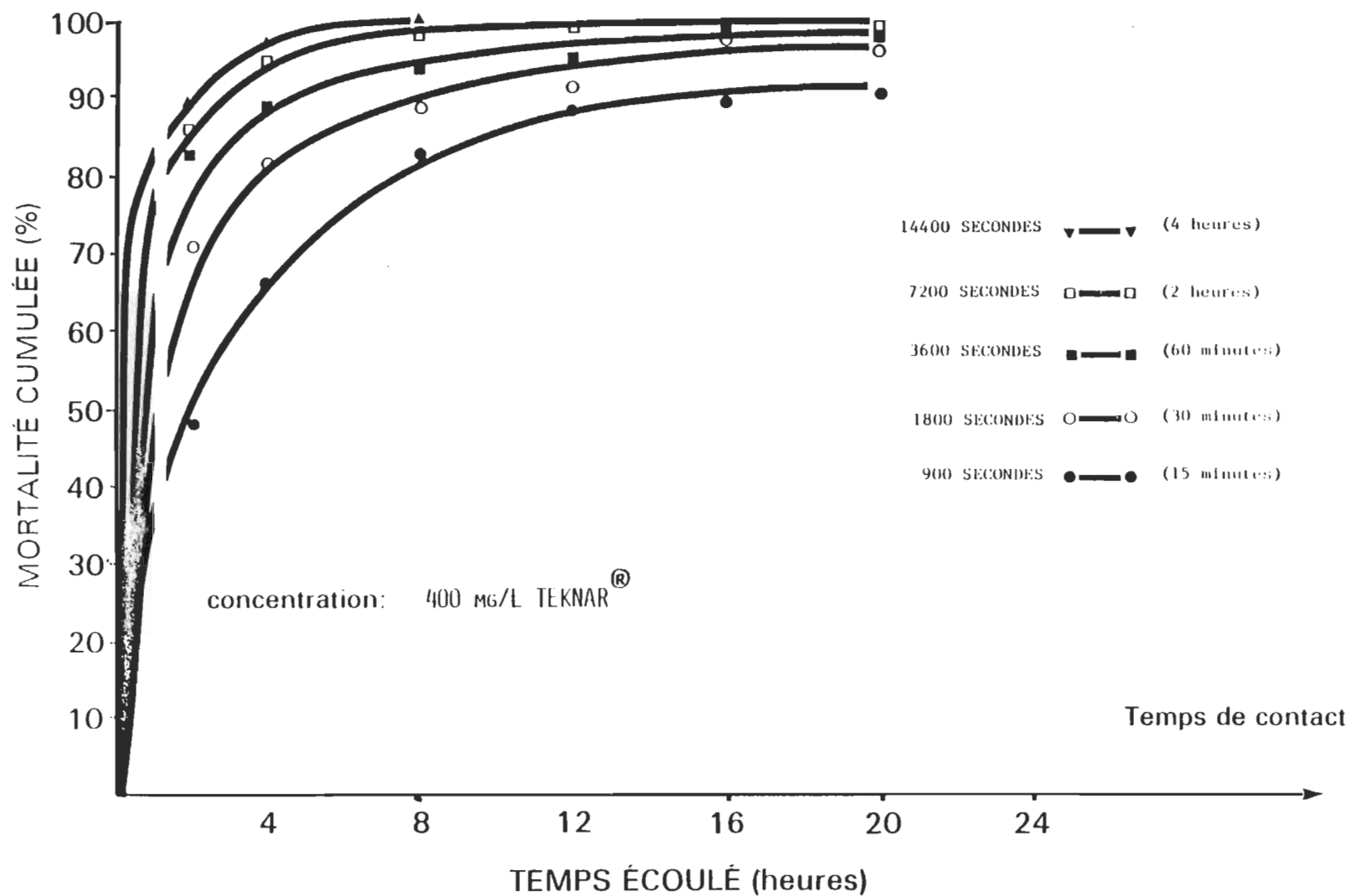


Figure no 7c Effet de la variation du temps de contact sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Simulium decorum soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 12 degrés Celsius.

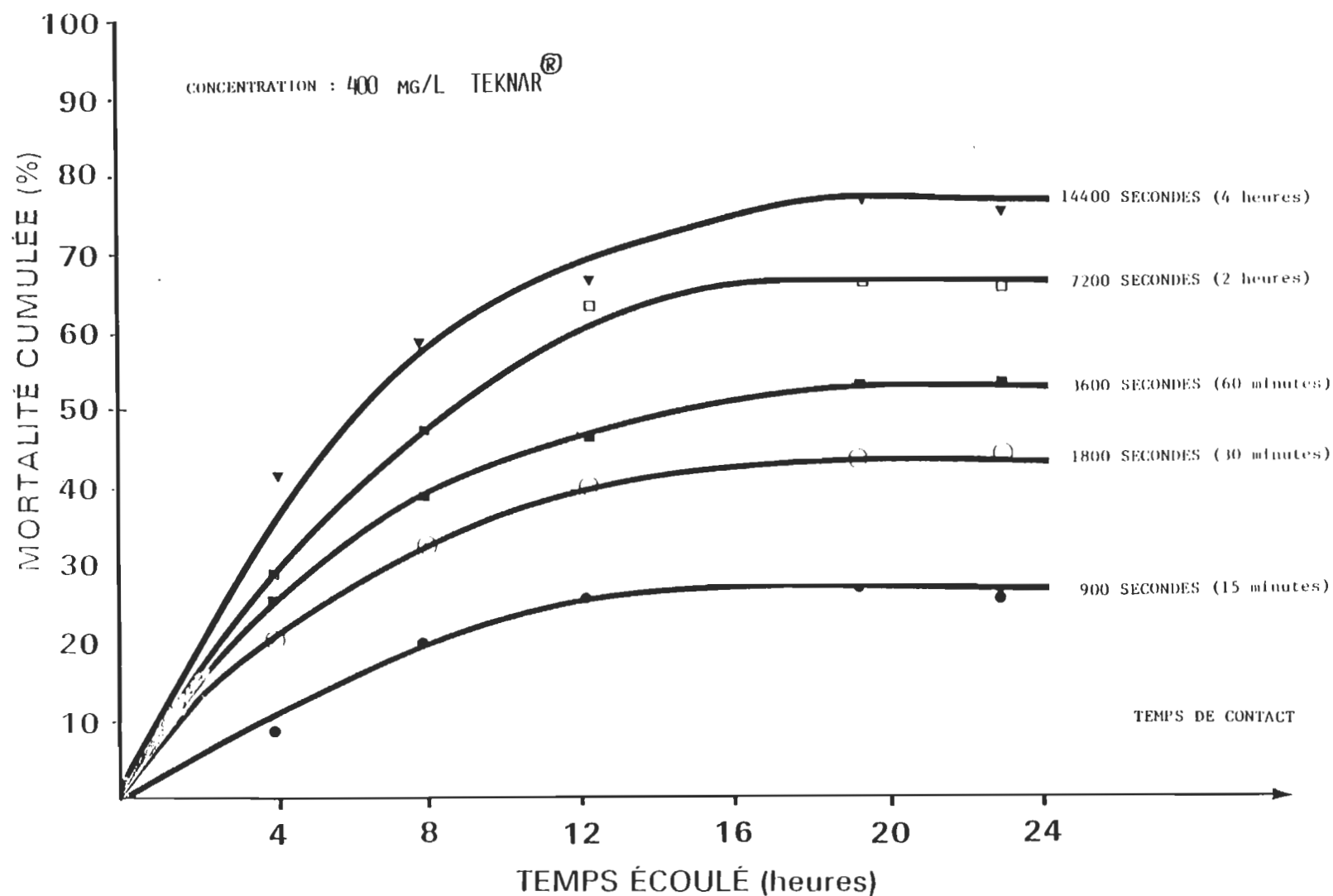


Figure no 8a Effet de la variation du temps de contact sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Prosimulium gr. mixtum soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 4 degrés Celsius.

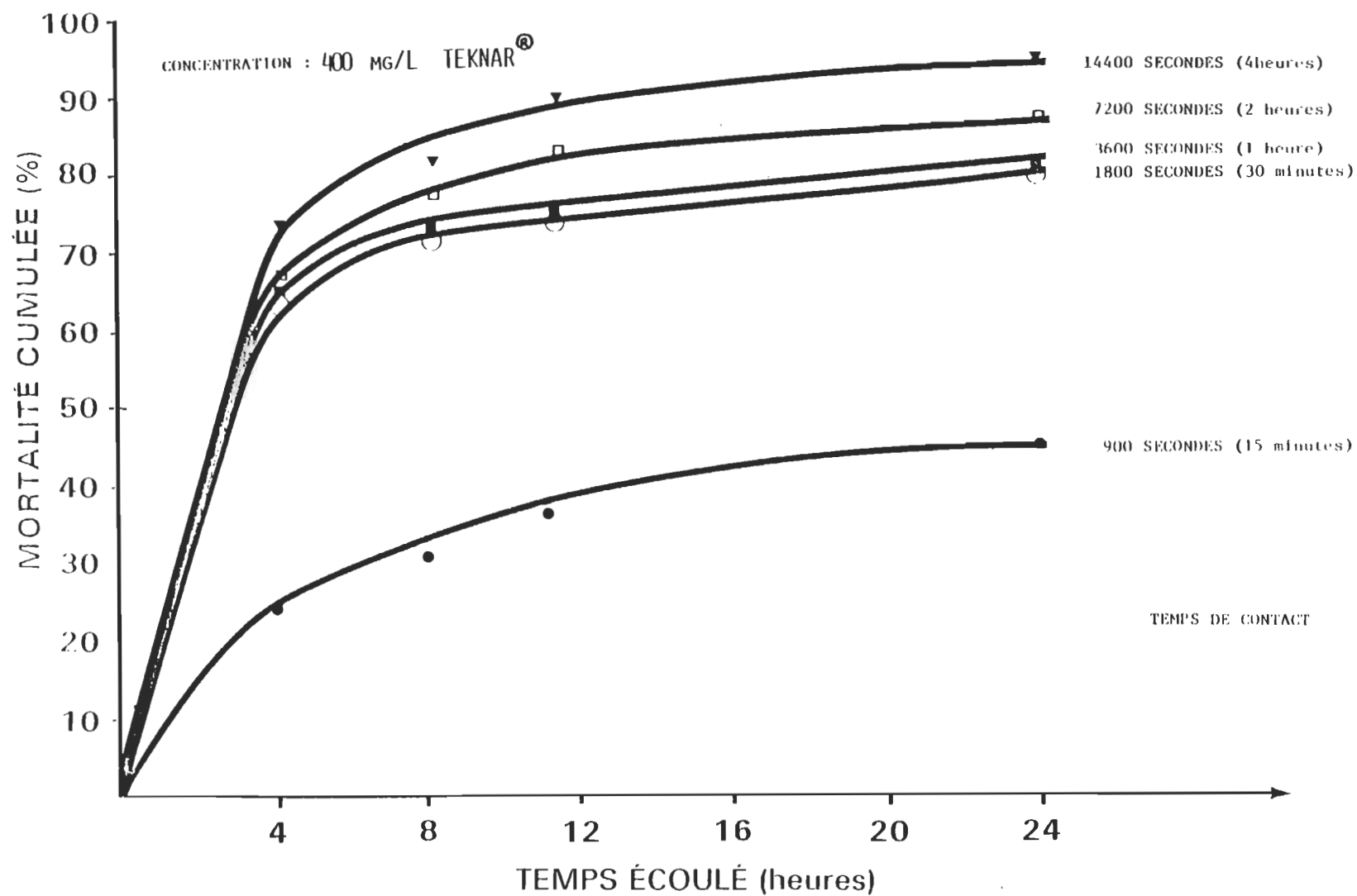


Figure no 8b Effet de la variation du temps de contact sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Prosimulium gr. mixtum soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 8 degrés Celsius.

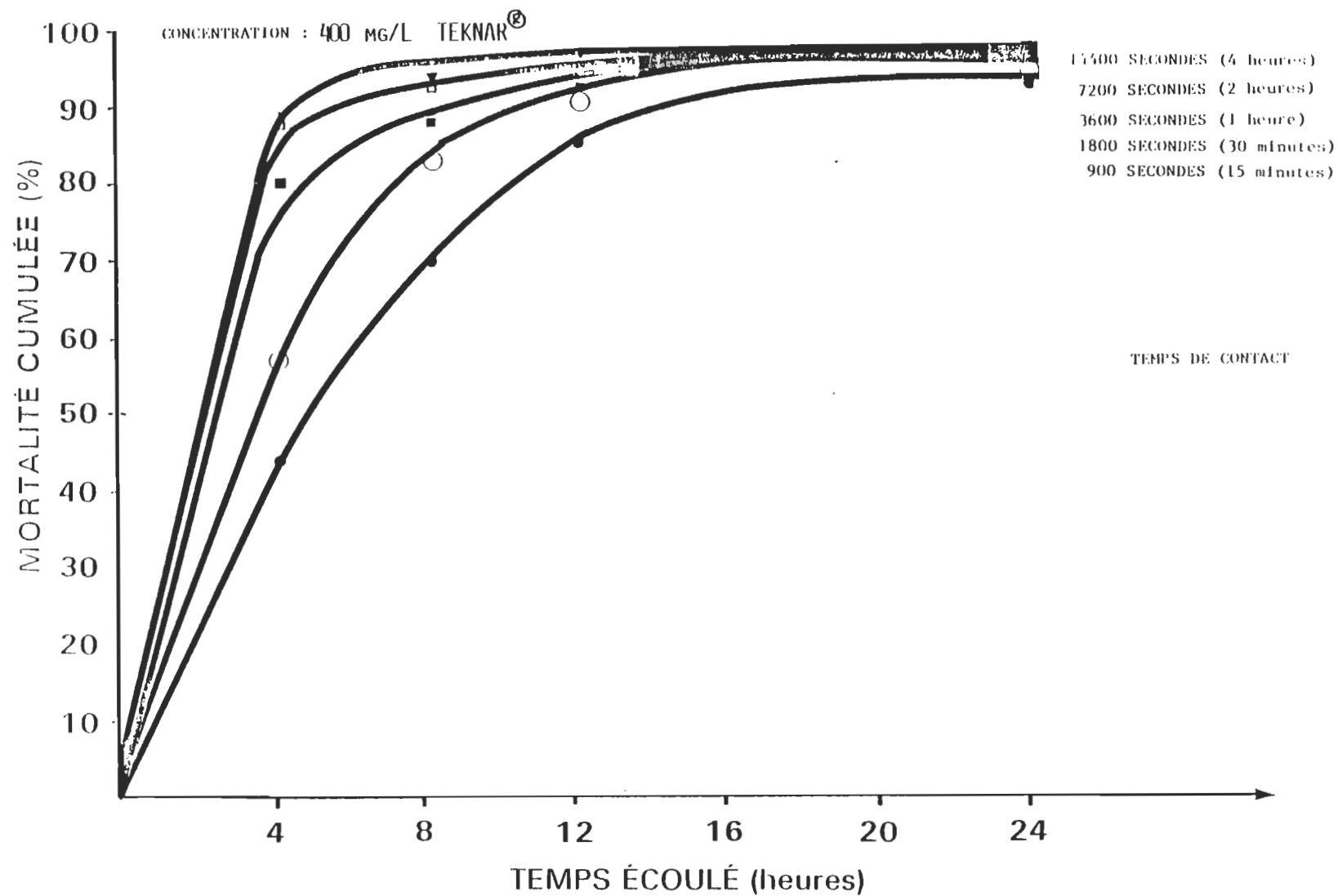


Figure no 8c Effet de la variation du temps de contact sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Prosimulium gr. mixtum soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 12 degrés Celsius.

mortalité survenant plus rapidement.

4. l'augmentation de la température favorise un accroissement du taux de mortalité observé pour un même temps de contact à une même heure de lecture. Modifiant ainsi le profil de la cinétique, un taux de mortalité défini (par exemple 50%) survient plus hâtivement pour une température plus élevée.
5. les relations existant entre le taux de mortalité, le temps de contact, les heures de lecture et la température sont de même nature pour l'une ou l'autre des espèces observées. Cependant il semble délicat à ce stade de l'étude, de déterminer s'il existe une différence significative entre ces deux espèces.

Cependant, afin de mieux comprendre cette relation existant entre le pourcentage de mortalité et le temps de contact, il est préférable de délaissier le mode de représentation cinétique du phénomène et d'exprimer le taux de mortalité en fonction du temps de contact (figure #9). De ce fait, la relation devient beaucoup plus évidente. Comme décrit précédemment, le taux de mortalité s'accroît en fonction de l'augmentation du temps de contact, jusqu'à atteindre un plateau quelle que soit l'heure de lecture considérée. De façon théorique, la

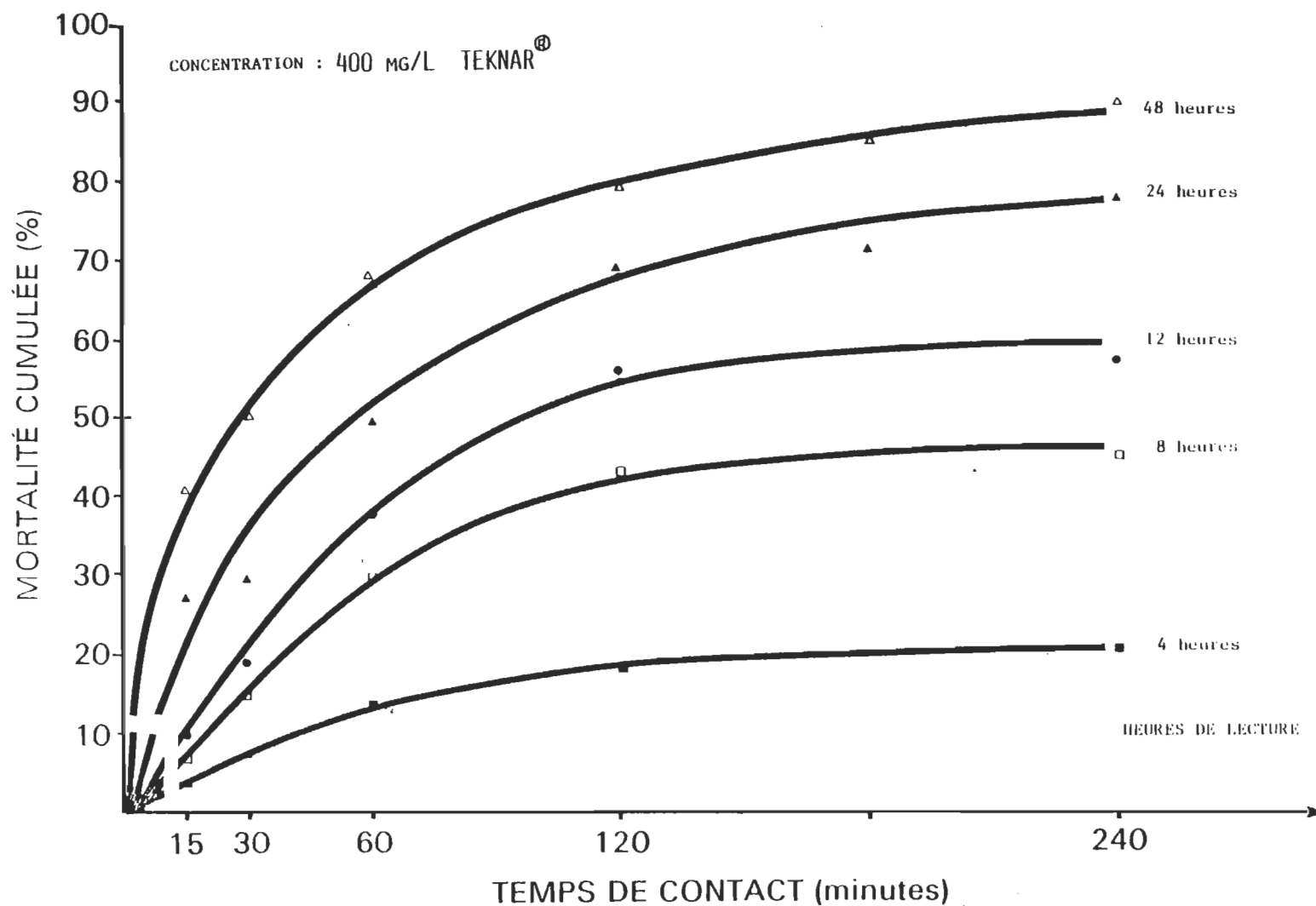
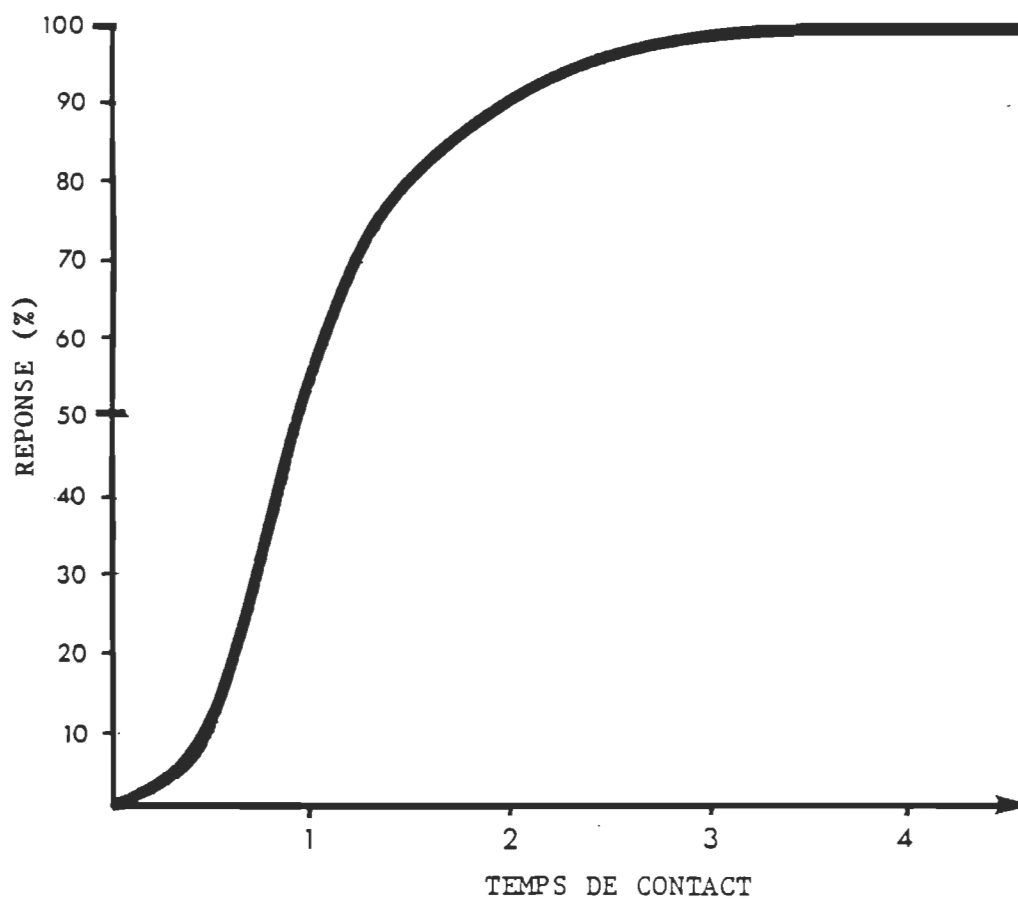


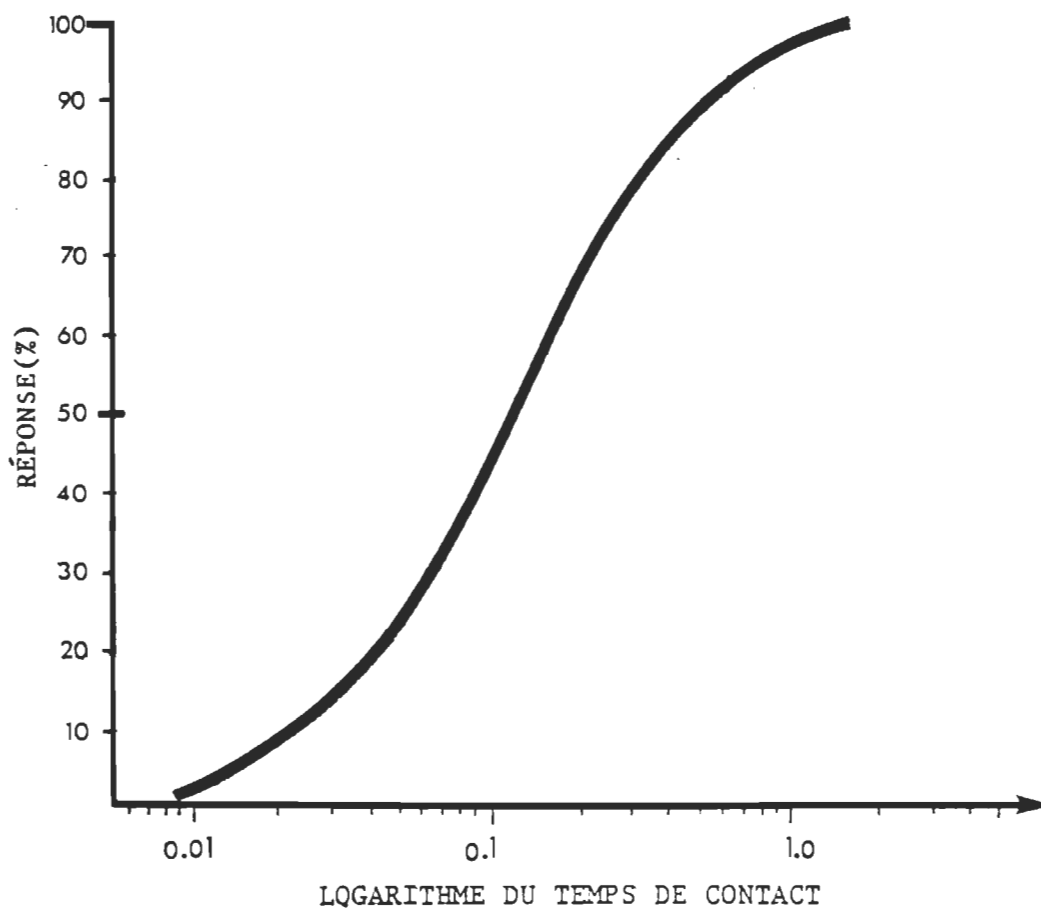
Figure no 9 Effet de la variation du temps de contact sur la mortalité chez Simulium decorum soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNA® à une température de 4 degrés Celsius, aux différentes heures d'observation.

représentation de cette relation se traduit par une courbe sigmoïde asymétrique, reliant le pourcentage de réponse au temps de contact avec le produit (figure #10a). C'est donc dire qu'il existerait pour une dose précise, un temps de contact minimum, c'est à dire un seuil inférieur en deçà duquel il serait impossible de déclencher une réponse positive. De même que l'obtention d'un taux de réussite de 100% s'avère théoriquement difficile à atteindre, puisque l'augmentation du temps de contact devient prohibitif par rapport à l'accroissement du taux de mortalité.

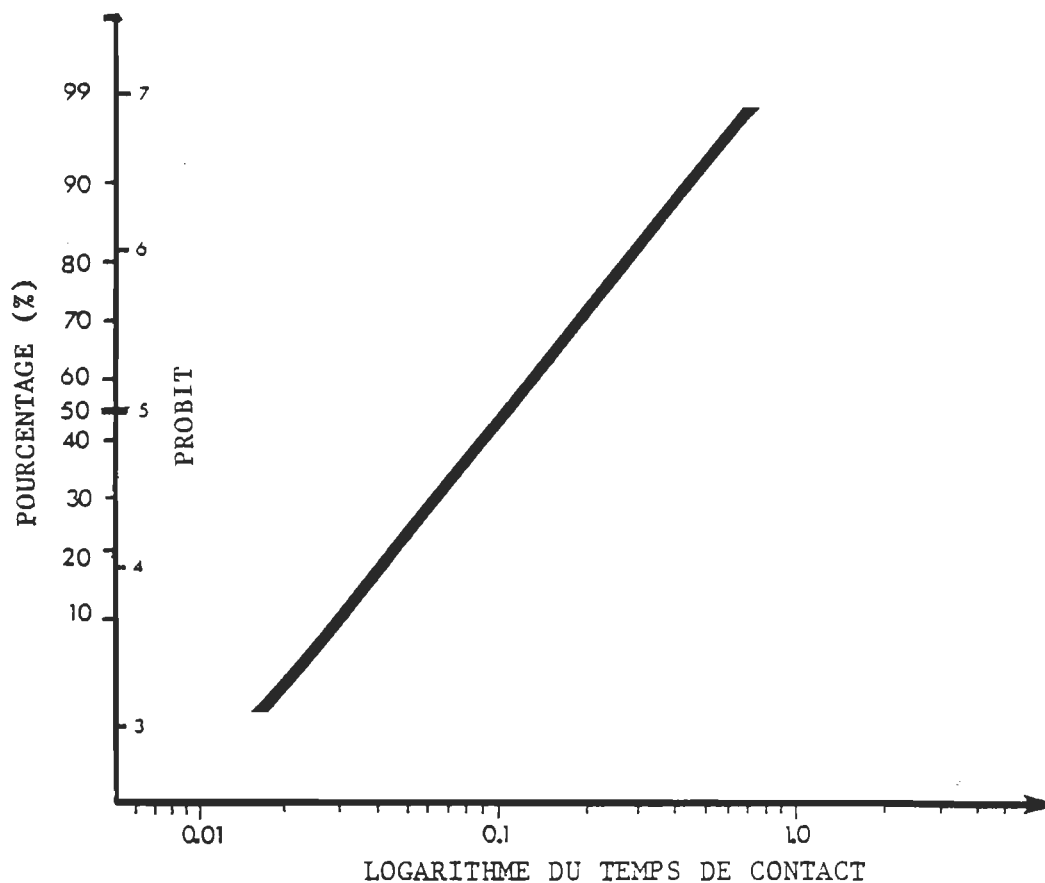
Afin de passer de la représentation sigmoïde asymétrique à une représentation linéaire beaucoup plus accessible, se résumant à une simple équation du premier degré, nous utilisons deux grands types de transformation mathématiques des données: le logarithme et le probit. En utilisant le logarithme du temps de contact à l'instar du temps de contact, nous obtenons généralement une courbe sigmoïde symétrique (figure #10b). L'effet de la transformation logarithmique doit être perçue comme la compression progressive de l'abscisse, compression s'intensifiant de plus en plus dans la section droite de la courbe (Hewlett et Plackett, 1979). D'autre part, par la transformation du pourcentage de réponse en échelle probit, nous obtenons normalement une relation approximativement linéaire (figure #10c) (Finney , 1971). Ayant maintenant déterminé l'équation traduisant la relation entre le pourcentage de mortalité et le temps de contact, il est possible



no 10a Courbe sigmoïde asymétrique caractéristique
représentant la relation existant entre le pourcentage
de mortalité et le temps de contact.



no 10b Courbe sigmoïde symétrique caractéristique
représentant la relation existant entre le pourcentage
de mortalité et le logarithme du temps de contact.



no 10c Courbe caractéristique représentant la relation existant entre le probit du pourcentage de mortalité et le logarithme du temps de contact.

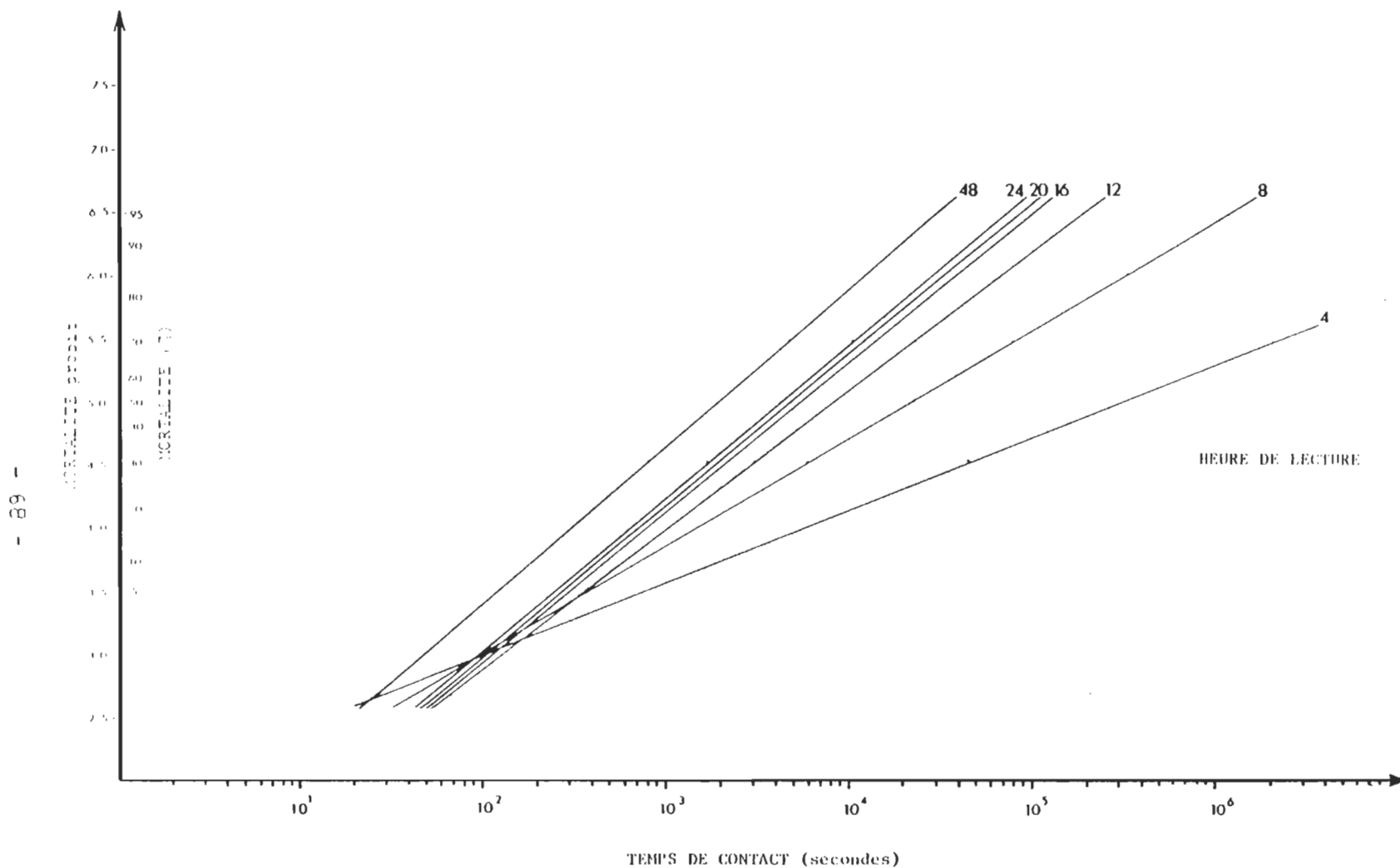


Figure no 11a Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme du temps de contact (analyse Probit) chez *Simulium decorum* soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNA[®] à une température de 4 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.

d'établir les temps de contact qui permettront l'élimination d'une certaine partie de la population, c'est à dire les "Temps de Contact Létaux" (TCL). Un programme d'analyses informatisées permettant ces calculs est disponible au centre de calcul des services informatiques de l'Université du Québec à Trois-Rivières, répondant à l'appellation PROB2 (Daum, 1969). A partir des résultats d'analyses produits il est possible de tracer les courbes correspondantes. Cette série de graphiques (figures #11a, 11b, 11c et #12a, 12b, 12c) met en évidence la relation existant entre le taux de mortalité et le temps de contact, pour une concentration fixe de 400 mg. de TEKNAR par litre, sous l'influence de la température, de l'heure de lecture et de l'espèce. De cette analyse, il nous est également possible de dresser un tableau compilatif des temps de contact nécessaires à l'élimination de 50% (TCL50%) et 90% (TCL90%) de la population, aux diverses heures de lecture, températures et espèces (tableau #6).

A ce stade, nous pouvons faire ressortir les considérations suivantes :

1. avec une augmentation de la période de temps où l'on désire observer le résultat espéré, c'est-à-dire l'heure de lecture, on observe globalement le déplacement de la relation vers la gauche, c'est-à-dire la zone où le temps de contact est plus

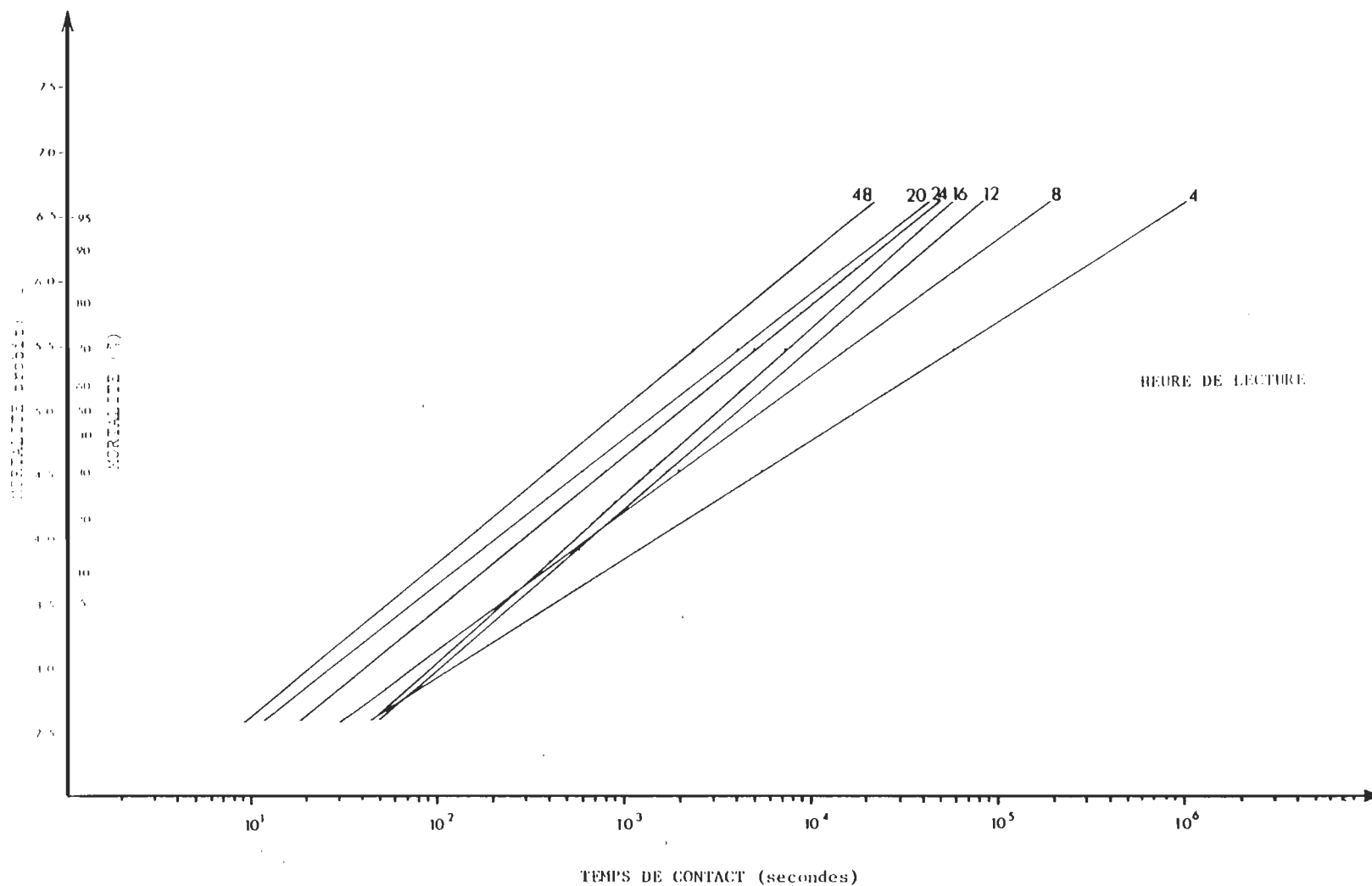


Figure no 11b Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme du temps de contact (analyse Probit) chez *Simulium decorum* soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR® à une température de 8 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.

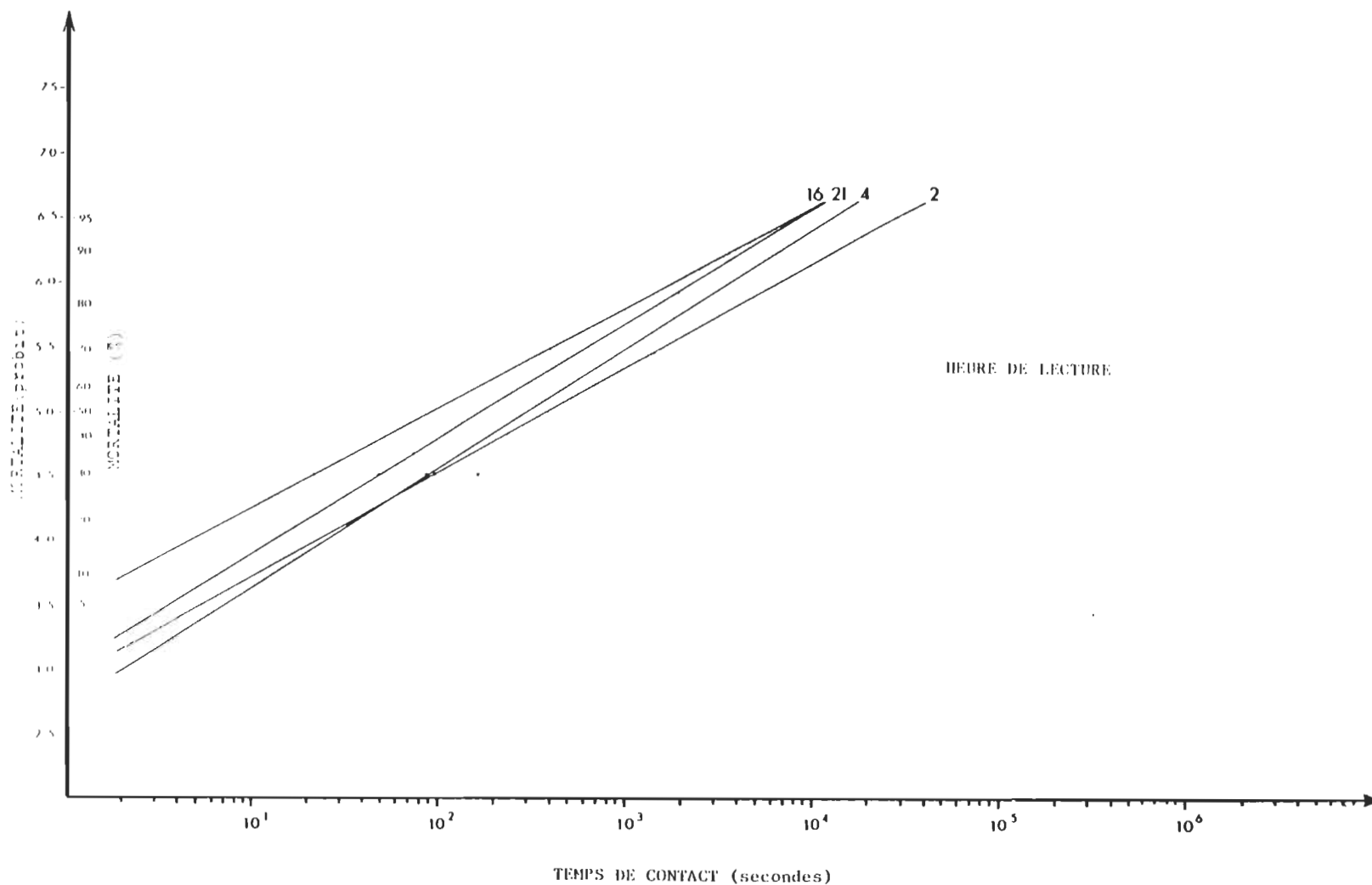


Figure no 11c Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme du temps de contact (analyse Probit) chez Simulium decorum soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR® à une température de 12 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.

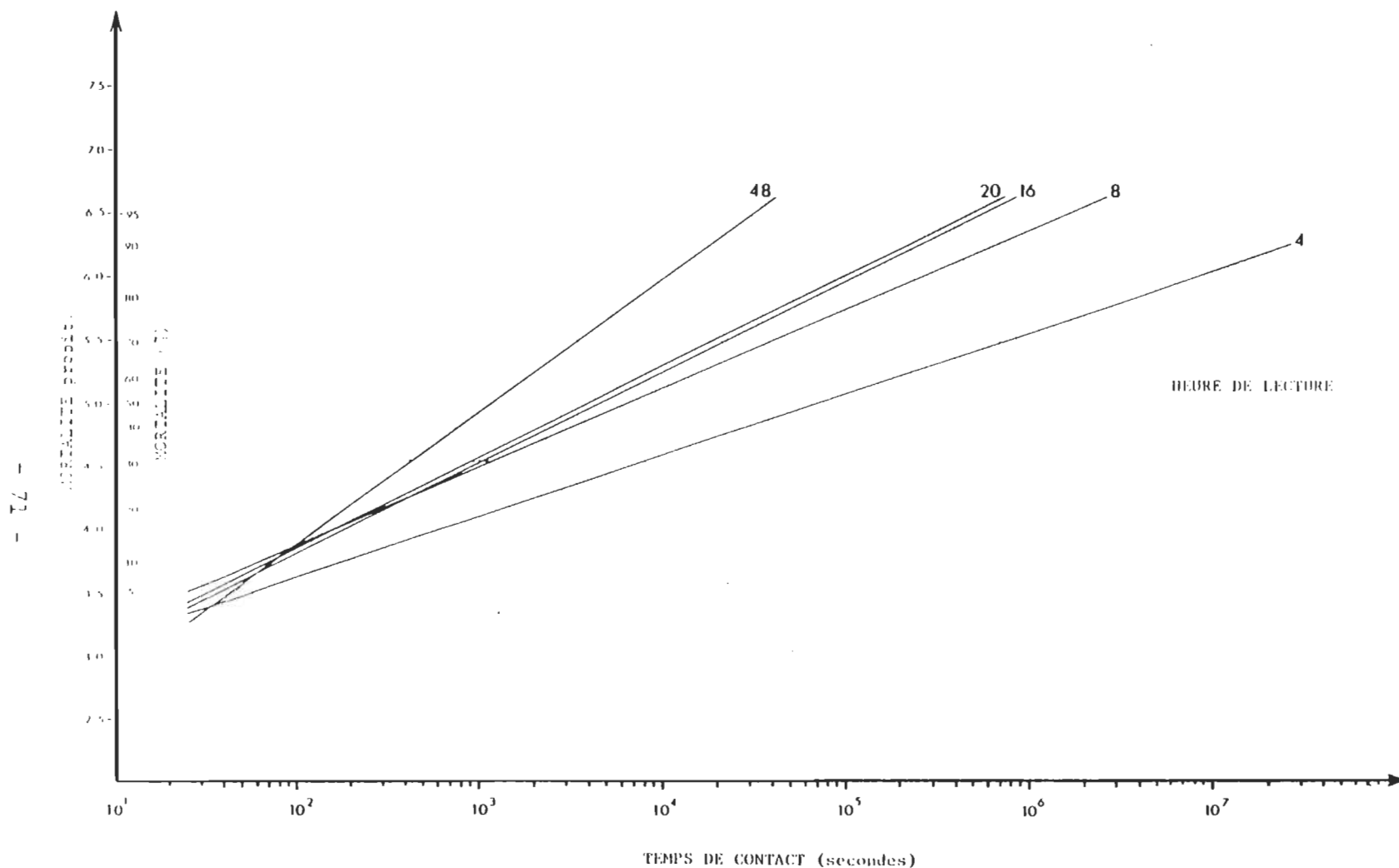


Figure no 12a Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme du temps de contact (analyse Probit) chez Prosimulium gr. mixtum soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR® à une température de 4 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.

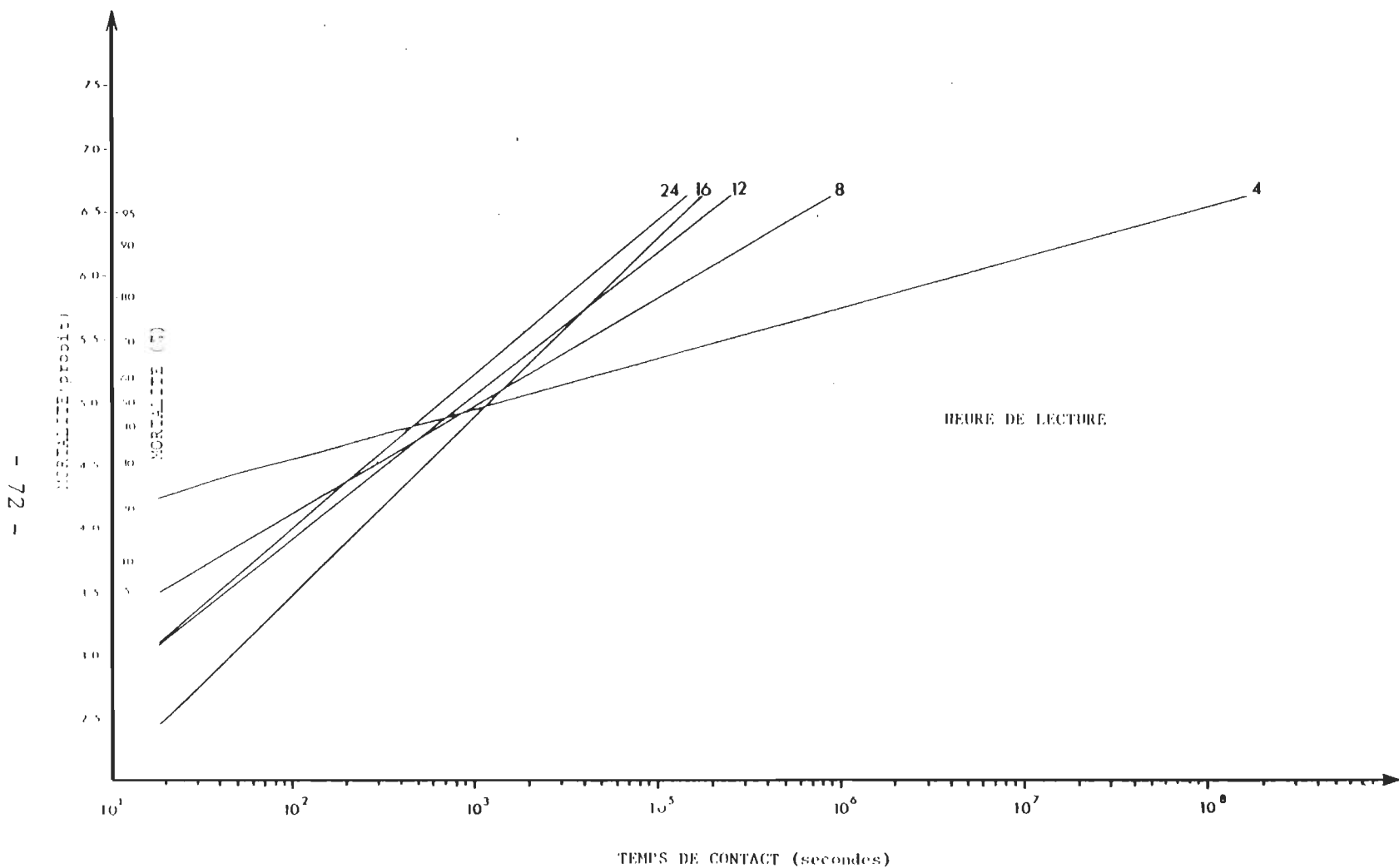


Figure no 12b Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme du temps de contact (analyse Probit) chez Prosimulium gr. mixtum soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNA[®] à une température de 8 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture

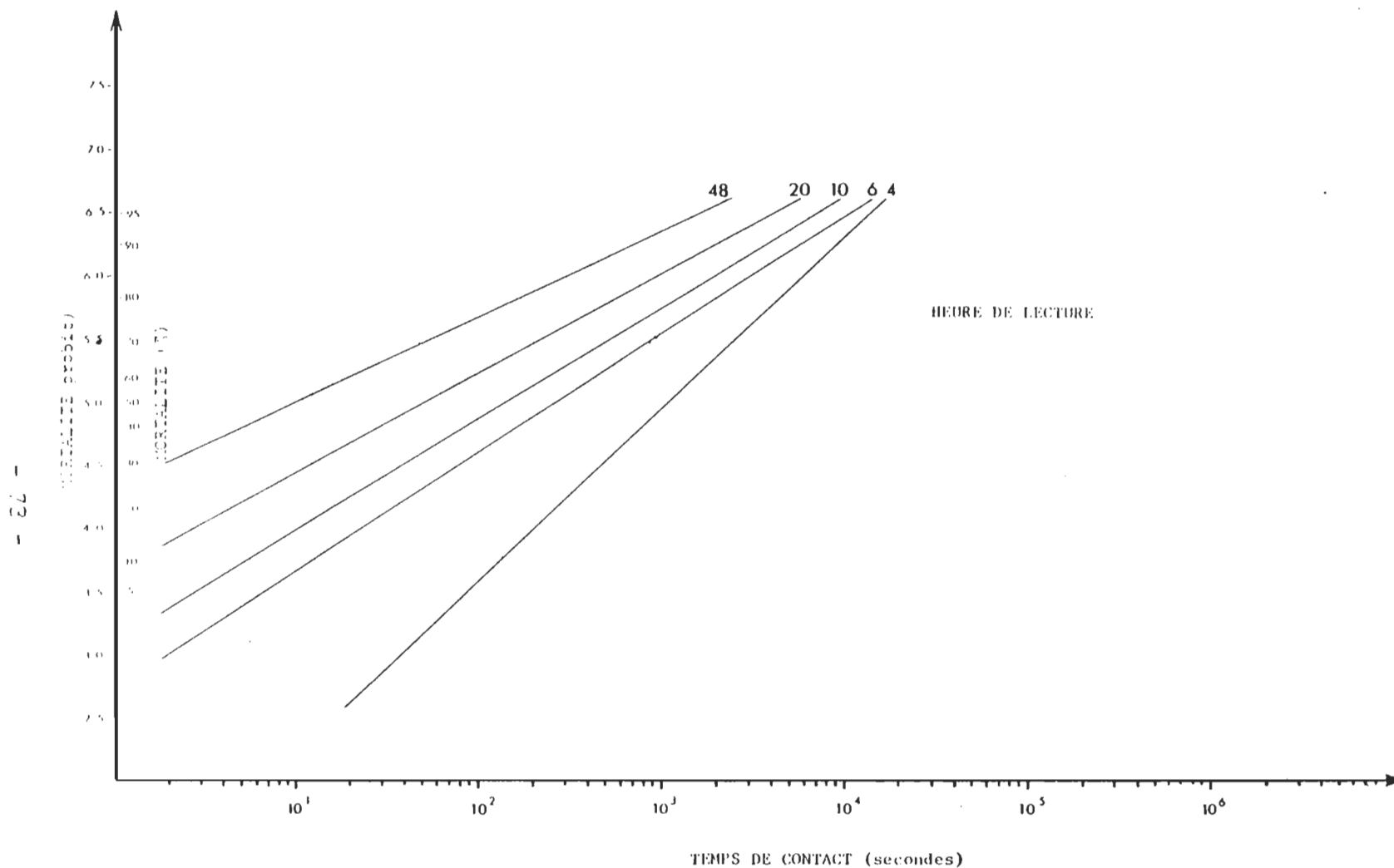


Figure no 12c Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme du temps de contact (analyse Probit) chez *Prosimulium* gr. *mixtum* soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAK® à une température de 12 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.

Espece	HL	4°C			8°C			12°C		
		TCL50%	TCL90%	m	TCL50%	TCL90%	m	TCL50%	TCL90%	m
<u>Prosimulium</u>	2 h.									
<u>gr. mixtum</u>	4 h.	1114	310486	0,524	26	1483	0,726	20	142	1,497
	6 h.							5	84	1,016
	8 h.	114	8247	0,689	17	284	1,037	4	62	1,094
	10 h.							3	51	0,983
	12 h.	77	89634	0,796	15	154	1,267			
	16 h.	82	3462	0,788	21	128	1,635			
	20 h.	68	2714	0,800	19	120	1,623	1	23	0,887
	24 h.	91	9065	0,642	11	92	1,387	6	40	1,426
	36 h.									
	48 h.	21	285	1,136	13	82	1,617	1	7	0,803
<u>Simulium</u>	2 h.							6	160	0,899
<u>decorum</u>	4 h.	5329	596341	0,626	298	5571	1,007	5	85	1,042
	6 h.									
	8 h.	359	9048	0,914	97	1149	1,194	2	36	0,925
	10 h.									
	12 h.	145	1669	1,208	68	571	1,382			
	16 h.	97	962	1,283	51	436	1,369	1	13	1,175
	20 h.	82	822	1,277	26	302	1,205	2	16	1,289
	24 h.	68	736	1,239	35	331	1,312			
	36 h.	31	272	1,367	11	101	1,302			
	48 h.	27	267	1,289	16	145	1,324			

. HL : heure de lecture
. TCL50% : temps de contact létal 50% (minutes)
. m : pente

Tableau no 6 Temps de contact létaux (TCL) 50% et 90% et leur pente associée, pour Simulium decorum et Prosimulium gr. mixtum soumises à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR®, à des températures de 4, 8 et 12 degrés Celsius, aux différentes heures d'observation.

bref. Le temps de contact nécessaire à l'élimination d'une certaine partie de la population étant plus court si ce pourcentage d'élimination est visé sur une période plus longue. C'est donc dire que le TCL50% est de plus en plus bref à mesure que l'heure de lecture visée (le temps d'exécution visé) est distante.

2. de même une augmentation de la température provoque le déplacement de la relation vers la zone où le temps de contact est plus bref. Le temps de contact nécessaire à l'élimination d'une certaine partie de la population, visée sur une période de temps fixée, diminue à mesure que la température augmente. La TCL50% tend donc à diminuer en fonction de l'augmentation de la température.
3. pour un même écart de température, l'effet de l'augmentation de la température semble plus prononcé aux basses températures (4 à 8 degrés Celsius) qu'aux températures plus élevées (8 à 12 degrés Celsius) (figure #13). Ainsi la diminution du TCL50% est plus grande lors du passage de 4 à 8 degrés Celsius, que lors du passage de 8 à 12 degrés Celsius.

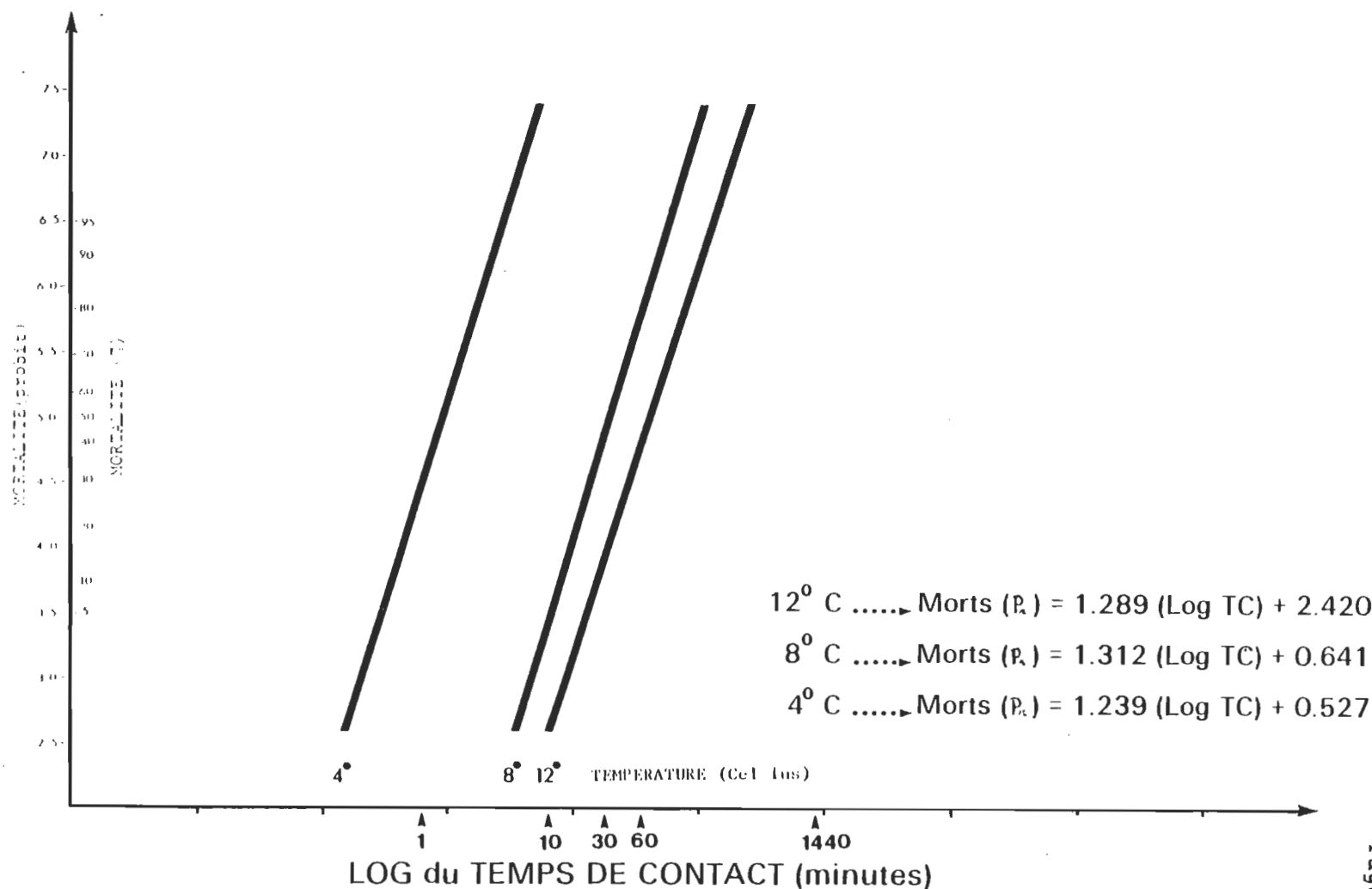
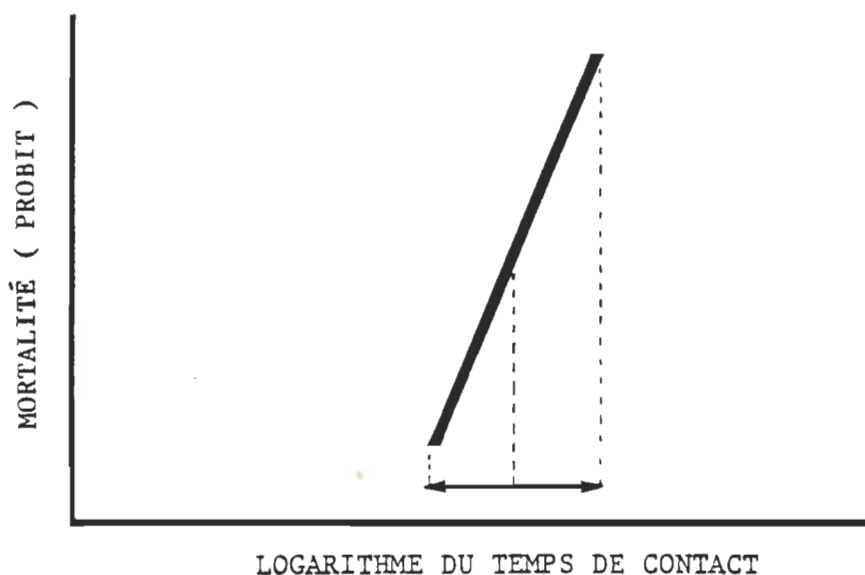


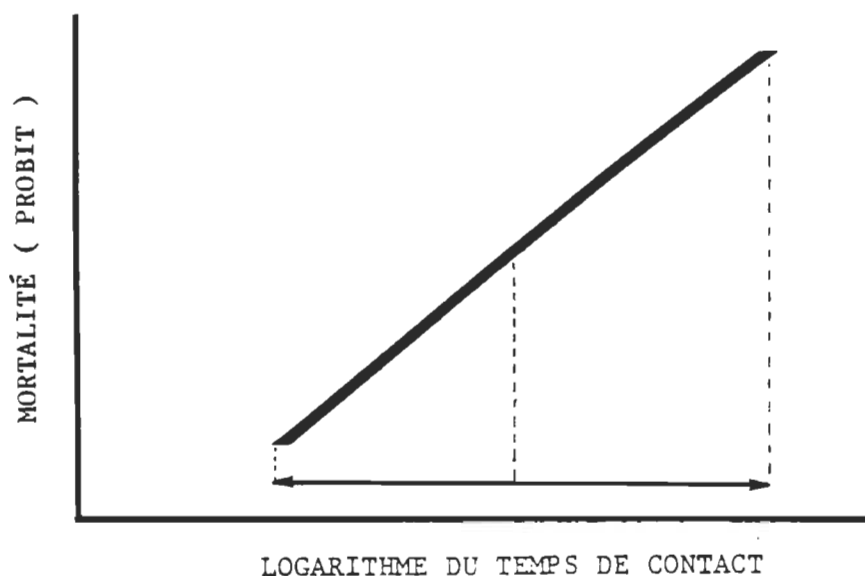
Figure no 13 Effet d'une variation de la température sur la relation existant entre le pourcentage de mortalité (probit) et le logarithme du temps de contact (analyse Probit) chez Simulium decorum soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR®, observée après une période de 24 heures.

4. concernant une différence pouvant exister entre les deux espèces considérées, il semble que l'espèce d'été (Simulium decorum) possède de façon générale, pour une même concentration de produit, des temps de contact létaux plus élevés que ceux définis pour l'espèce d'hiver (Prosimulium gr. mixtum) (tableau #6). Une augmentation de la température diminue également l'écart relatif des TCL entre les deux espèces pour une même heure de lecture. Cette différence s'amointrissant à mesure que l'heure de lecture visée (temps d'exécution visé) pour l'élimination d'une certaine partie de la population, s'accroît.

Une relation de type linéaire entre deux paramètres pouvant être plus simplement représentée par un point associé à une pente, nous pouvons représenter la relation qui existe entre le taux de mortalité (sous la forme probit) et le temps de contact (sous forme logarithmique), par le TCL50% et la pente qui lui est associée (tableau #6). Une faible pente signifiant que les temps de contact nécessaires à l'élimination d'une certaine portion de la population sont étalés de part et d'autre du TCL50% (figure #14a), de même qu'une pente plus élevée signifie que ces points sont plus rapprochés les uns des autres (figure #14b). Ceci démontrant que si deux espèces possèdent le même TCL50% pour une concentration, une heure de lecture et une température

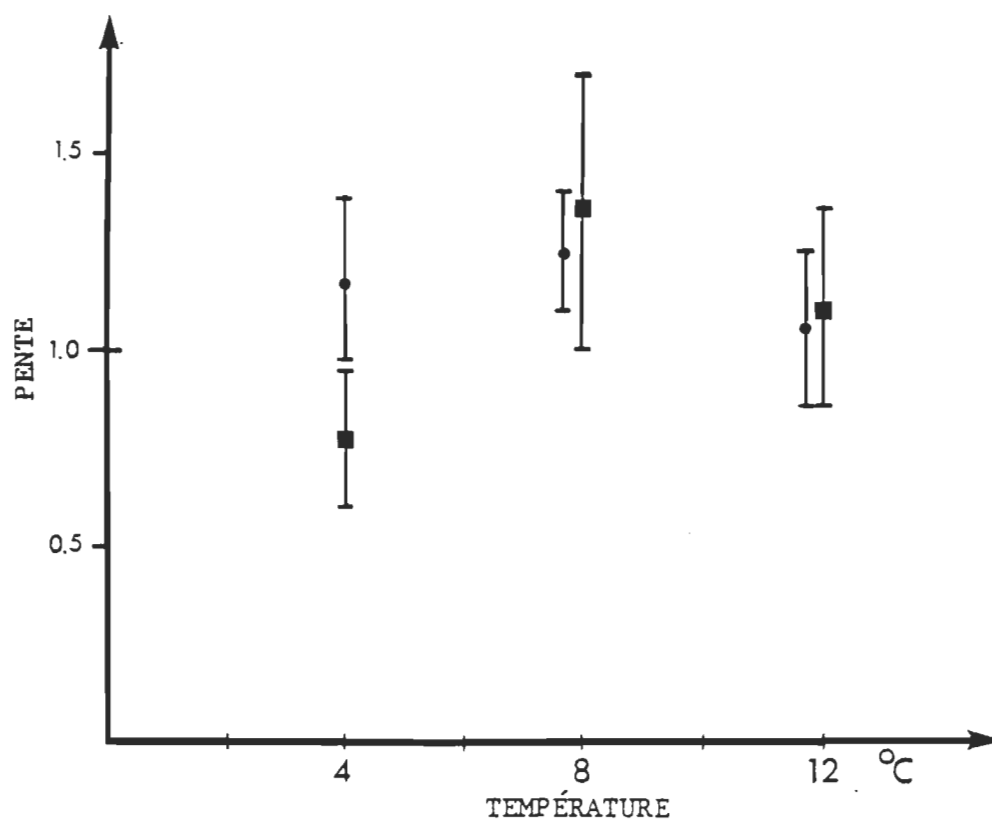


no 14a Représentation schématique de la "suceptibilité relative" à concentration, température et heure de lecture identiques: "suceptibilité relative" élevée.



no 14b Représentation schématique de la "suceptibilité relative" à concentration, température et heure de lecture identiques: "suceptibilité relative" faible (où l'espèce en fig. 14a est plus "suceptible" "relativement" à l'espèce en fig. 14b).

données, la relation entre le taux de mortalité et le temps de contact peut différer. Dans l'un des cas, il se peut fort bien que pour augmenter le taux de mortalité de 10%, le temps de contact doit être considérablement prolongé; dans l'autre, un faible accroissement du temps de contact serait nécessaire. En compilant les données du tableau #6 en fonction des pentes associées à chacun des TCL50%, il est possible de vérifier à l'aide d'une analyse multivariée de variance et de covariance, s'il existe une différence significative entre les pentes associées aux diverses espèces placées aux différentes températures (figure #15). En ce qui concerne l'espèce d'hiver (Prosimulium gr. mixtum), il fut déterminé qu'il existait des différences significatives (0,05) entre les pentes moyennes à 4 degrés Celsius ($0,768 \pm 0,191$) et 8 degrés Celsius ($1,327 \pm 0,346$) d'une part et entre les pentes à 4 degrés Celsius et 12 degrés Celsius ($1,101 \pm 0,264$) d'autre part, les pentes moyennes aux températures de 8 et 12 degrés Celsius n'ayant démontré aucune différence significative. La moyennes de ces pentes ont tendance à augmenter lors d'un accroissement de la température de 4 à 8 degrés Celsius, pour par la suite se stabiliser. Chez l'espèce d'été (Simulium decorum), aucune différence significative ne fut déterminée entre les pentes moyennes aux diverses températures. Considérant une disparité entre les deux espèces, seule une température de 4 degrés Celsius la démontre significativement.



■ Prosimulium gr. mixtum

● Simulium decorum

— Intervalles de confiance 95%

Figure no 15 Effet d'une variation de la température sur la moyenne des pentes exprimant la relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme du temps de contact (analyse Probit) pour Simulium decorum et Prosimulium gr. mixtum soumises à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR, observées après une période de 24 heures.

La suite logique de ce cheminement serait donc de définir l'influence exercée par le temps d'exécution visé (période au bout de laquelle on désire obtenir un certain taux de mortalité chez une population), la température et l'espèce, sur la relation maintenant définie existant entre le pourcentage de mortalité et le temps de contact. Une modélisation mathématique élaborée de ces phénomènes débordant du cadre de ce mémoire, je n'exposerai ici qu'un exemple de tentative de linéarisation de la relation existant entre le temps de contact létal éliminant 50% de la population, l'heure de lecture et la température, pour une seule espèce (Simulium decorum). Suite à de nombreux essais utilisant de multiples transformations mathématiques dans le cadre d'une analyse en régression linéaire multiple, l'équation suivante semble à ce point, décrire le mieux les résultats obtenus (\ln = logarithme népérien, TC = temps de contact, HL = heure de lecture, $e = 2,72828$, T = température)(figure #16).

$$\ln(TCL50\%) = 12,346 - 1,377 (\ln HL) - 0,000028 ** (e ** T)$$

Cette dernière, ébauche un cheminement permettant de déterminer le temps de contact nécessaire à l'élimination de 50% de la population en fonction du temps d'exécution visé (heure de lecture visée) et de la température, lors de l'utilisation d'une concentration de 400 mg de TEKNAR par litre, sur l'espèce d'été (Simulium decorum). Peu importe la représentation mathématique du phénomène, l'allure générale de la

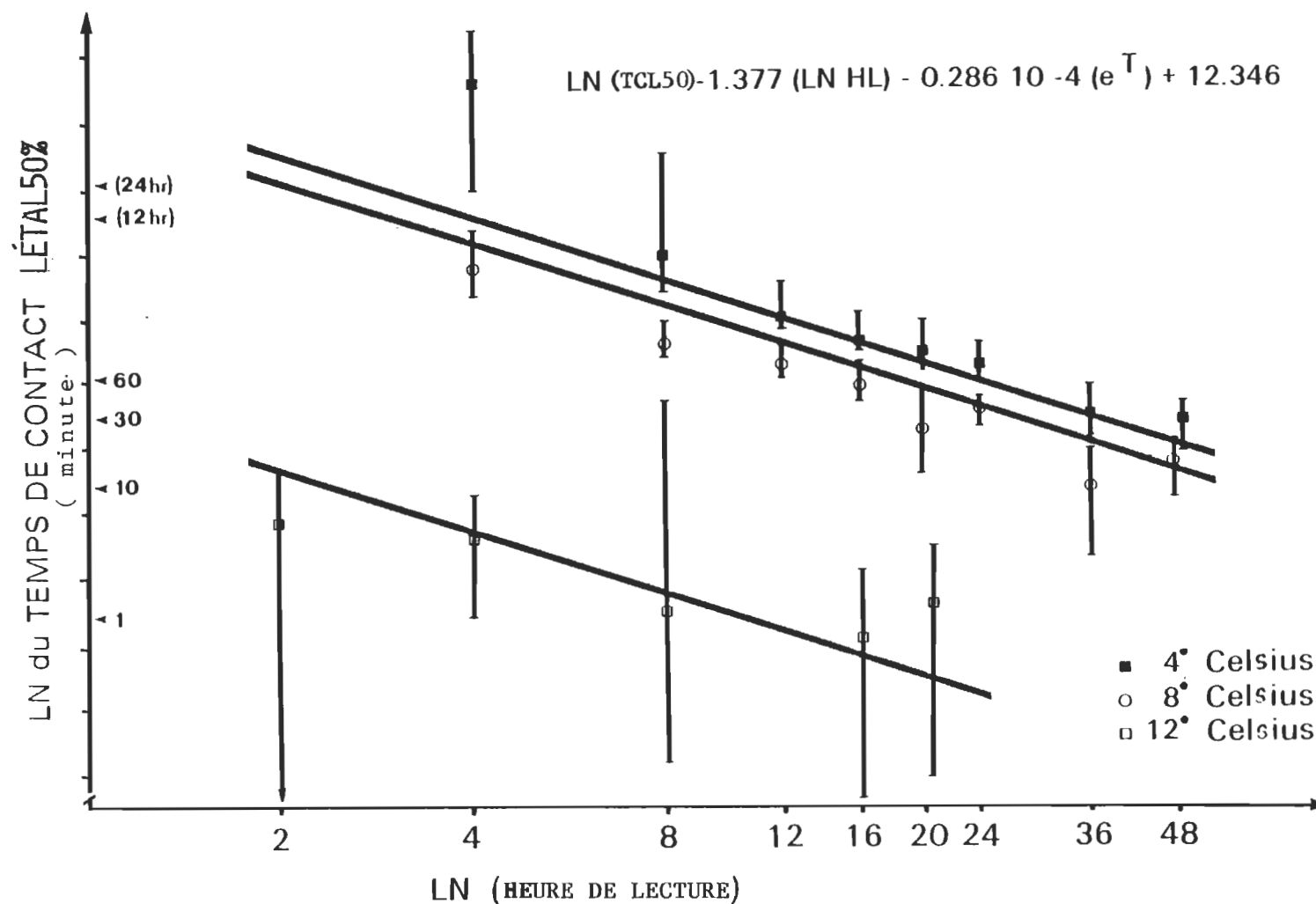


Figure no 16 Relation existant entre la température, le logarithme népérien du temps de contact létal 50% (TCL50%) et le logarithme népérien de l'heure de lecture chez Simulium decorum soumise à une concentration de 400 mg/l. de TEKNAR®.

relation demeurera toujours la même. C'est-à-dire que plus le temps d'exécution visé est long, plus le temps de contact nécessaire à l'élimination de 50% de la population de Simulium decorum pour un traitement exécuté avec une concentration de 400 mg de TEKNAR par litre, à une température donnée, serait court. Une augmentation de la température diminuant proportionnellement la longueur de ce temps de contact.

Plus d'une représentation mathématique de ce phénomène peuvent être ébauchées, cependant, ce modèle ne rend compte que de l'influence d'une seule concentration. La "complexification" de cette relation par l'introduction d'un paramètre tel la concentration, implique tout d'abord la compréhension de l'influence de ce paramètre sur des bases plus simples.

IV.1.2 VARIATION DE LA CONCENTRATION

Cette série d'expériences fut conduite sur les deux espèces principales, à trois températures chez l'espèce d'hiver (Prosimulium gr. mixtum) et à quatre en ce qui concerne l'espèce d'été (Simulium decorum) et ce, pour un temps de contact fixe de 30 minutes (1800 secondes) et un pH du milieu de 6,8. Les observations ont été faites aux différentes heures successives, afin de suivre la progression du phénomène de toxicité (figure #17).

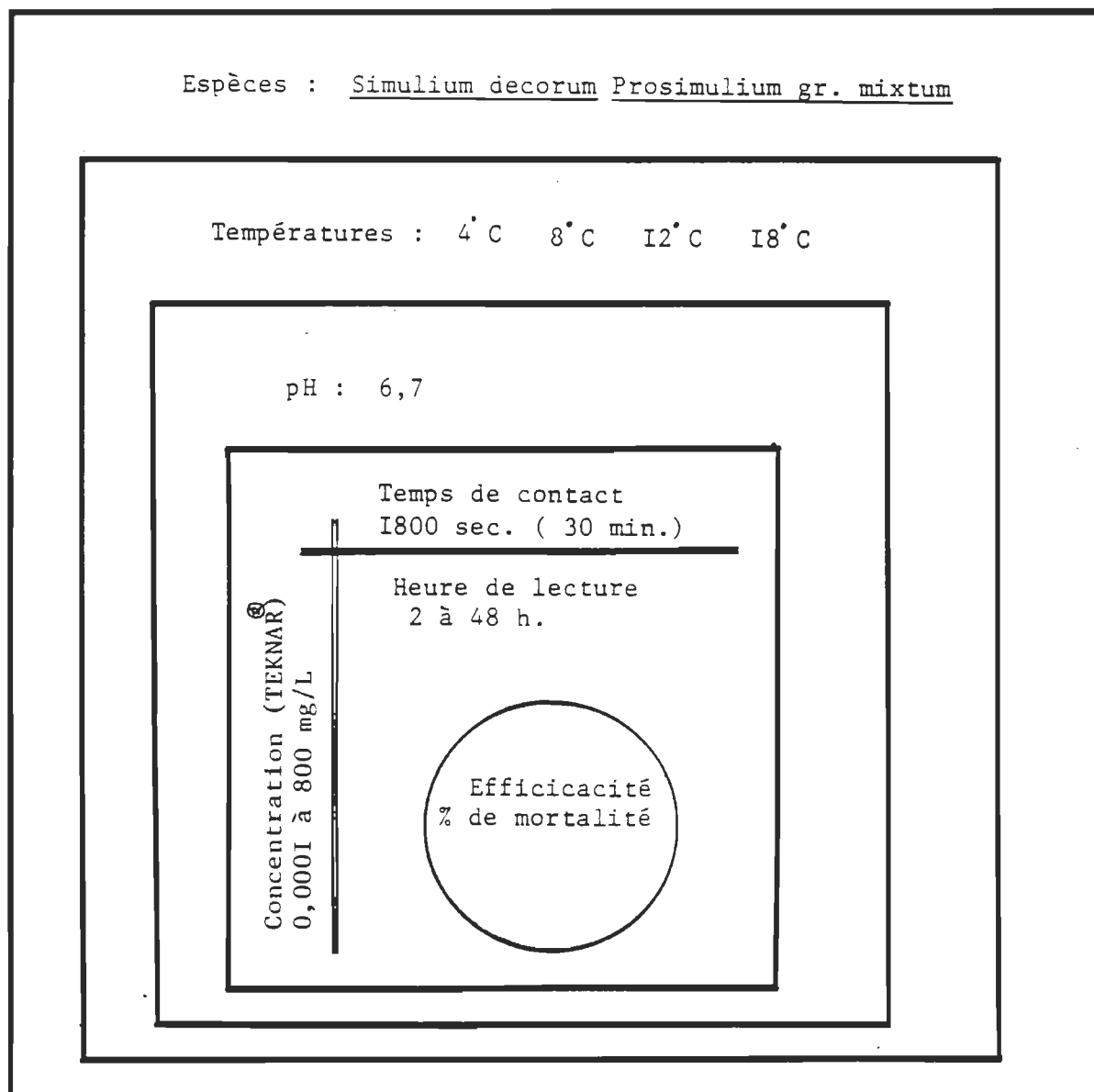


Figure no 17 Paramètres sélectionnés lors de l'analyse de l'effet de la concentration sur le potentiel larvicide du Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis.

Nous obtenons donc comme résultats, le nombre d'individus morts suite à un traitement de 30 minutes pour chacune des concentrations appliquées, à chacune des heures de lecture suivant le début du traitement, ce pour une espèce et une température déterminées. Cela nous permet d'établir une série de graphiques représentant la cinétique de l'intoxication, c'est-à-dire la relation qui existe entre le taux de mortalité et la période de temps écoulé depuis le début de l'application, en fonction des concentrations sélectionnées, pour toutes espèces et températures considérées (figures #18a, 18b, 18c, 18d et #19a, 19b, 19c). L'examen de ces graphiques permet de mettre en évidence les considérations suivantes.

Pour un temps de contact fixe de 30 minutes (1800 secondes), à un pH du milieu de 6,8 , nous observons que :

1. pour toutes concentrations utilisées, le taux de mortalité progresse en fonction du temps écoulé, jusqu'à atteindre un plateau dans la majorité des cas.
2. pour une même heure de lecture, le taux de mortalité s'accroît proportionnellement en fonction de l'augmentation de la concentration.

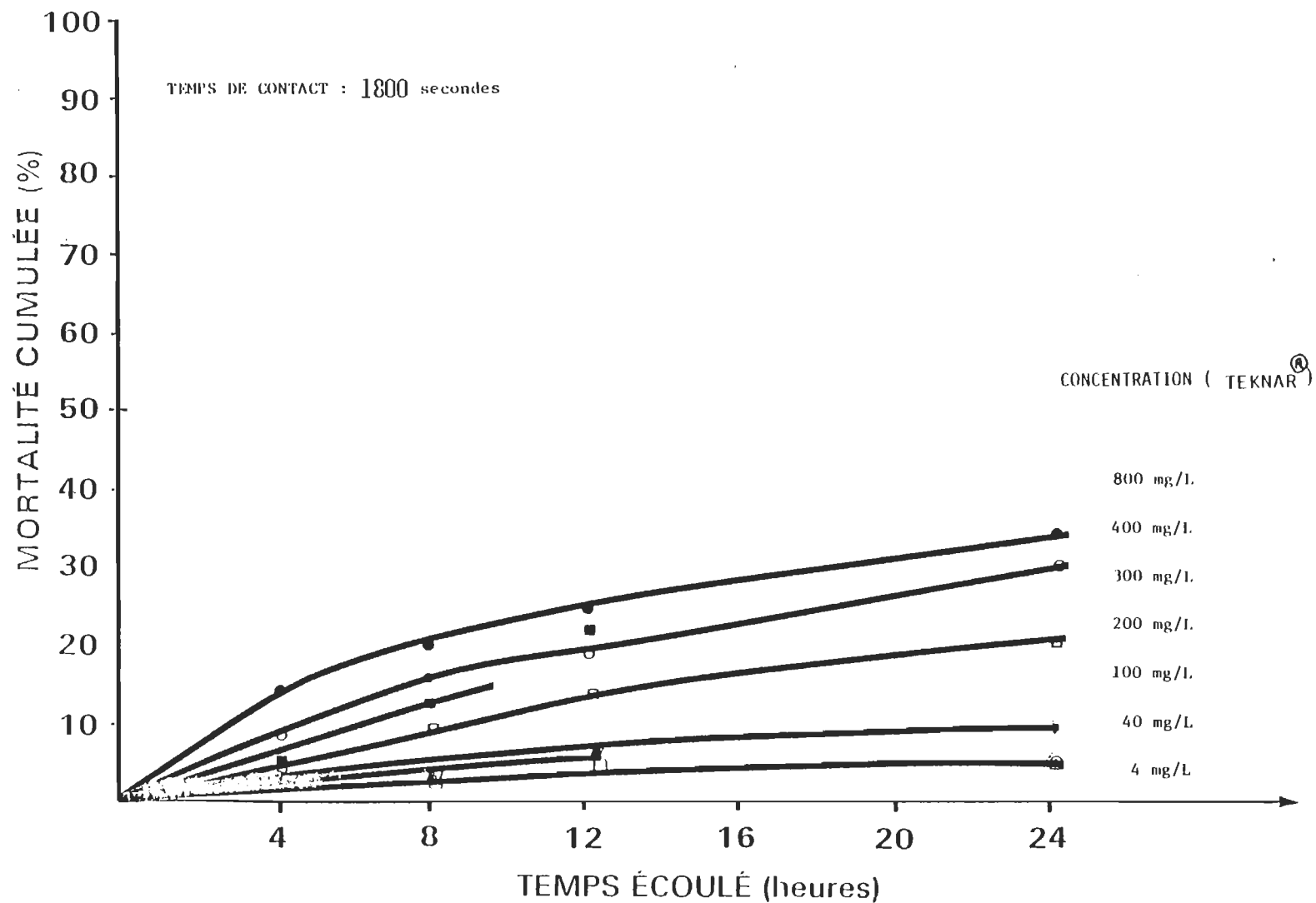


Figure no 18a Effet de la variation de la concentration sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Simulium decorum soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 4 degrés Celsius.

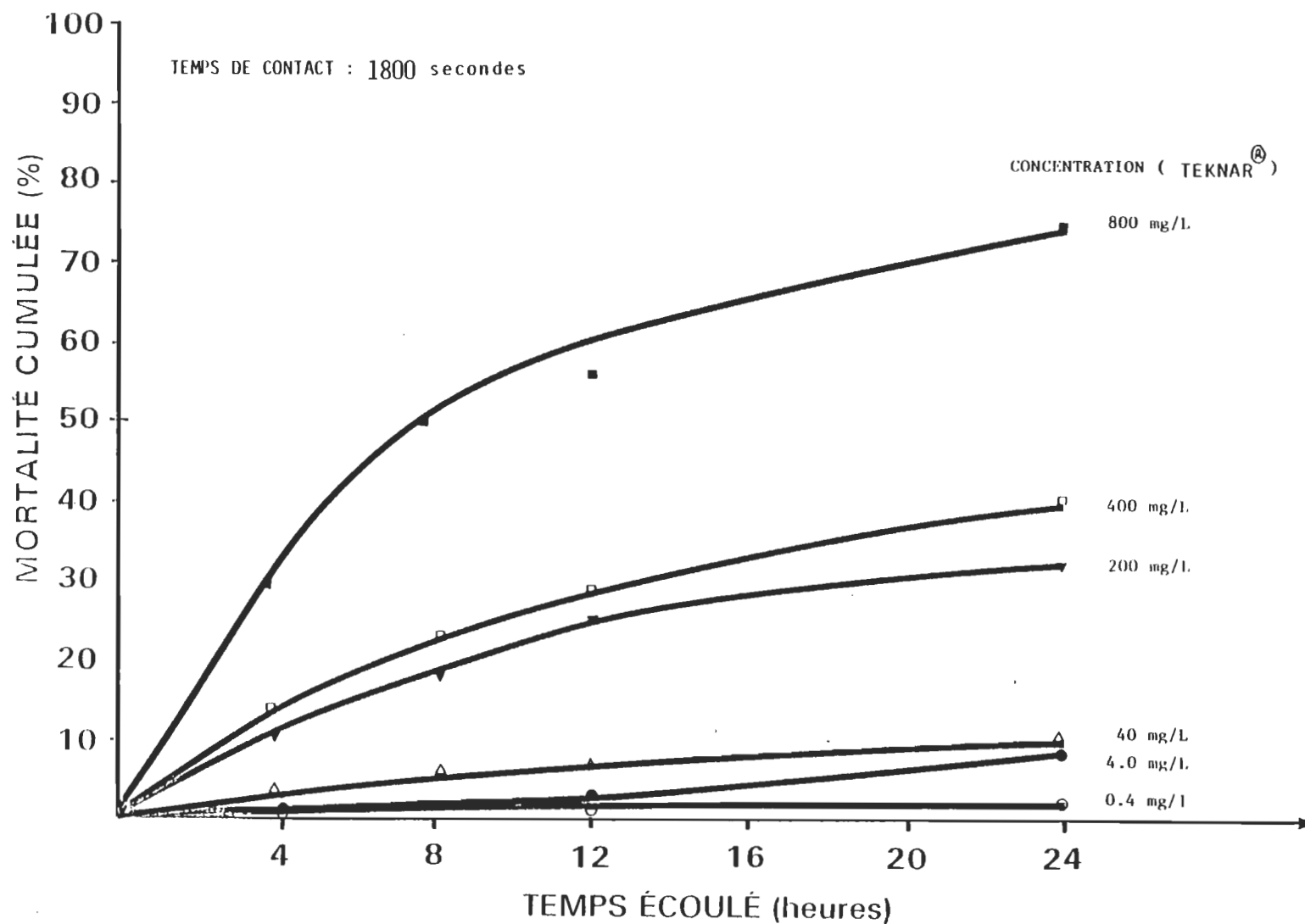


Figure no 18b Effet de la variation de la concentration sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Simulium decorum soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 8 degrés Celsius.

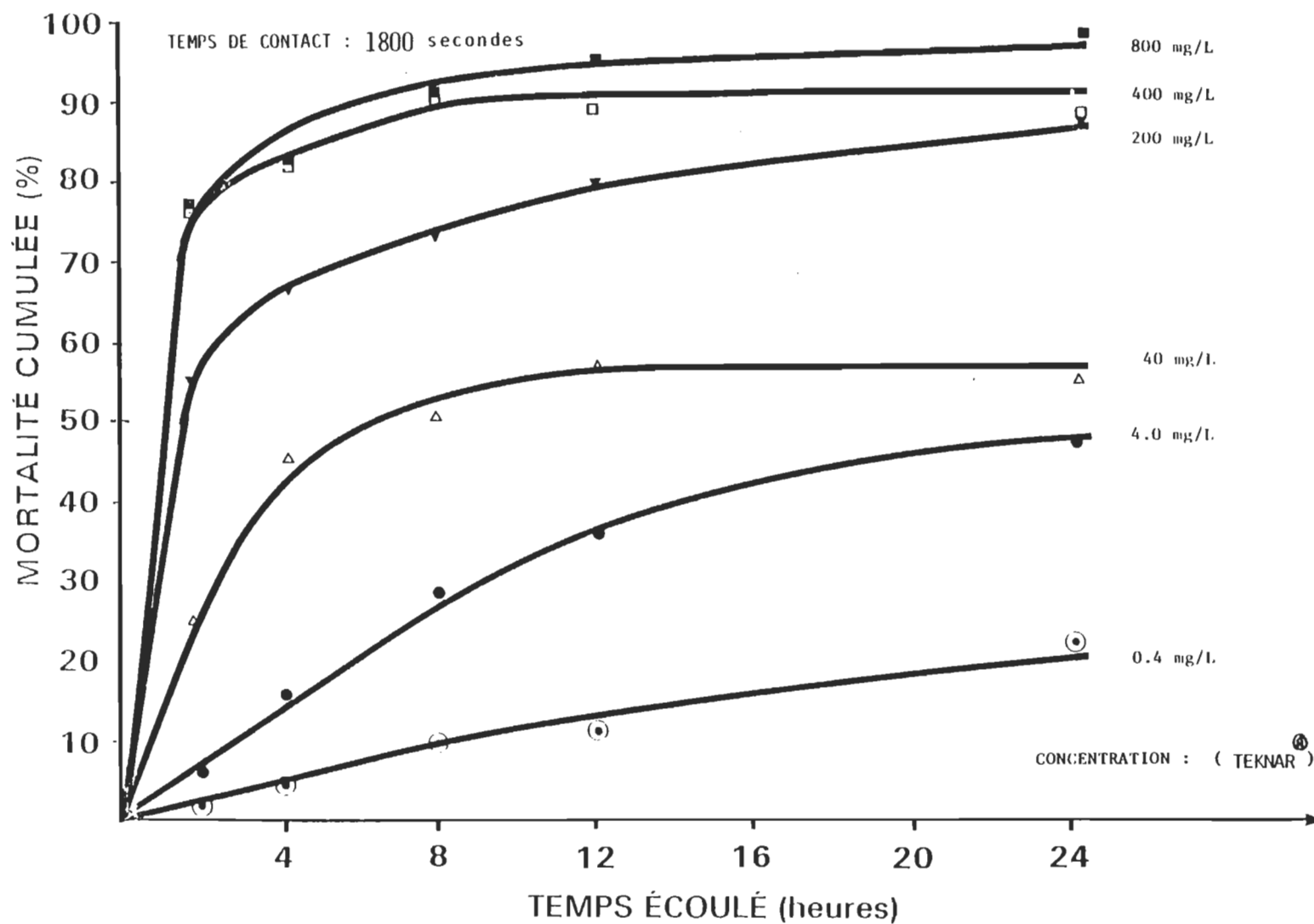


Figure no 18c Effet de la variation de la concentration sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Simulium decorum soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 12 degrés Celsius.

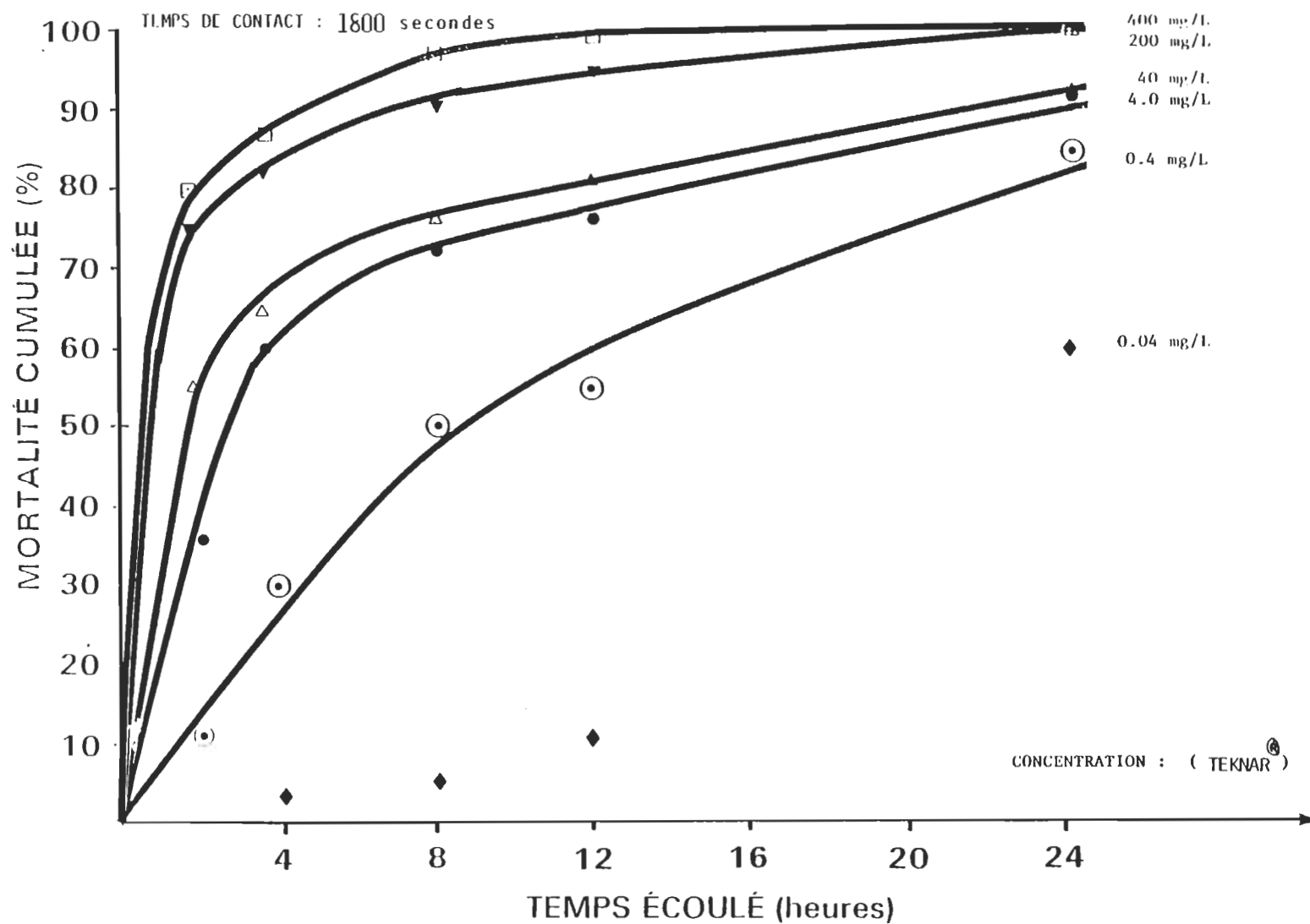


Figure no 18d Effet de la variation de la concentration sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Simulium decorum soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 18 degrés Celsius.

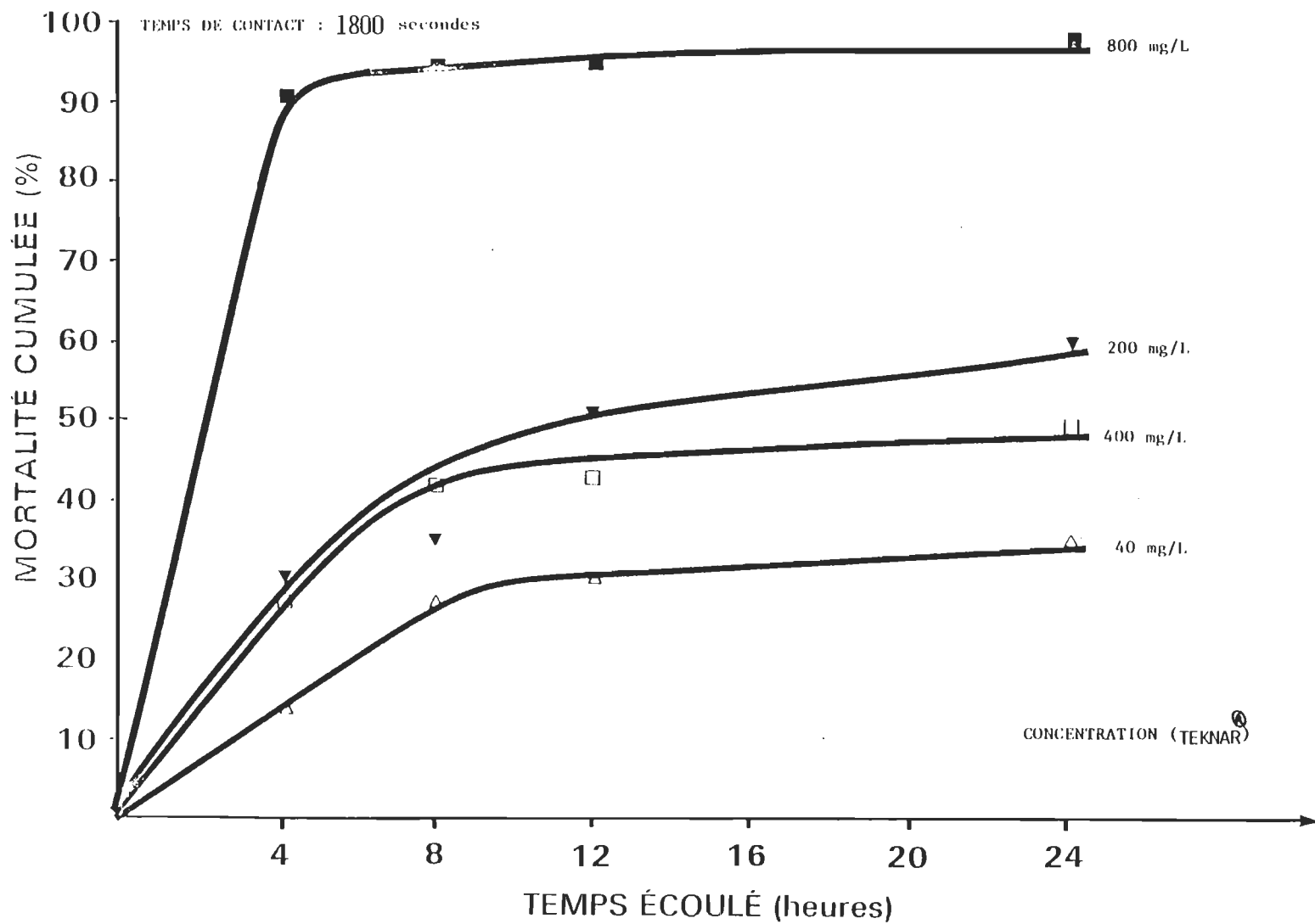


Figure no 19a Effet de la variation de la concentration sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Prosimulium gr. mixtum soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 4 degrés Celsius.

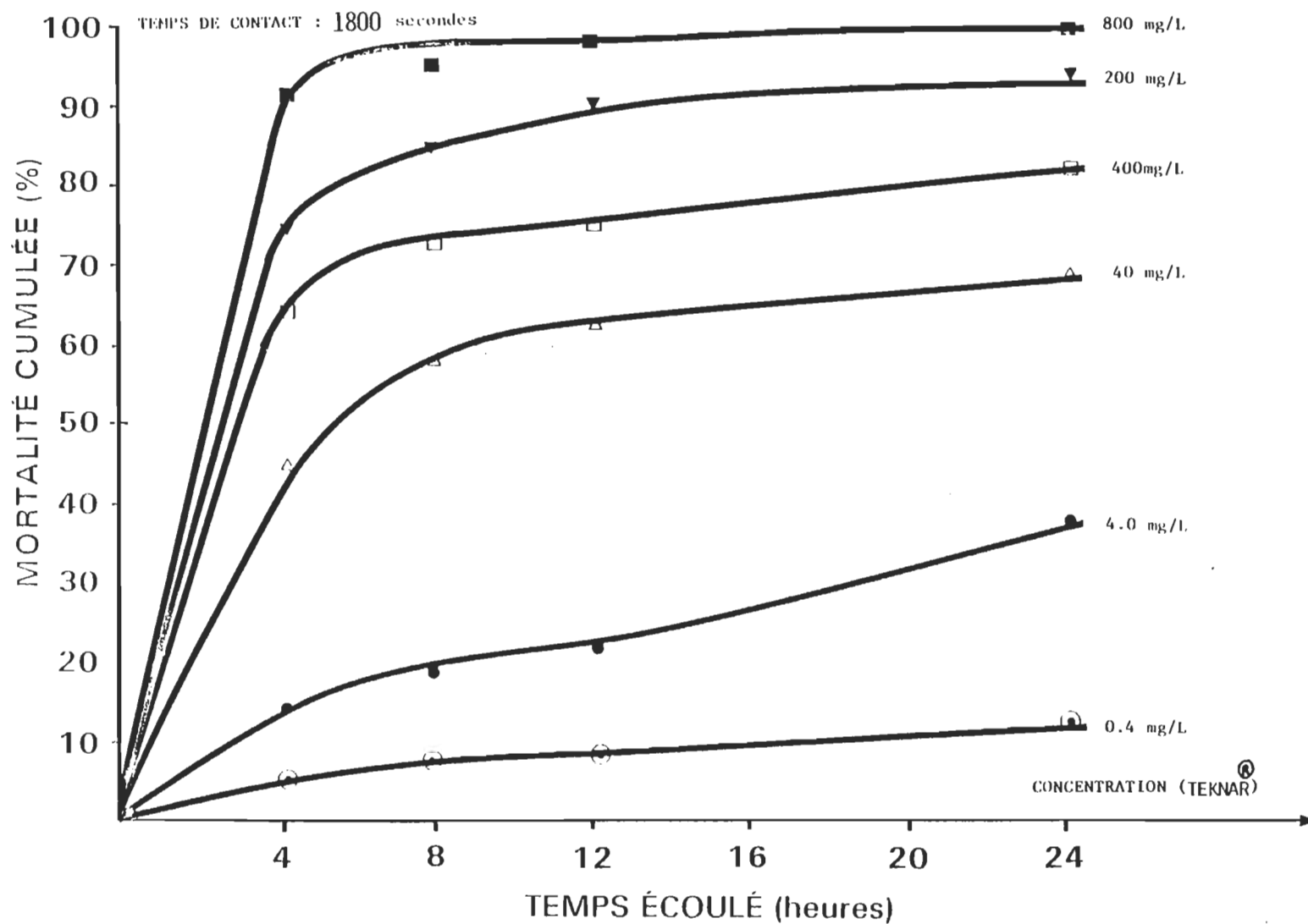


Figure no 19b Effet de la variation de la concentration sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Prosimulium gr. mixtum soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 8 degrés Celsius.

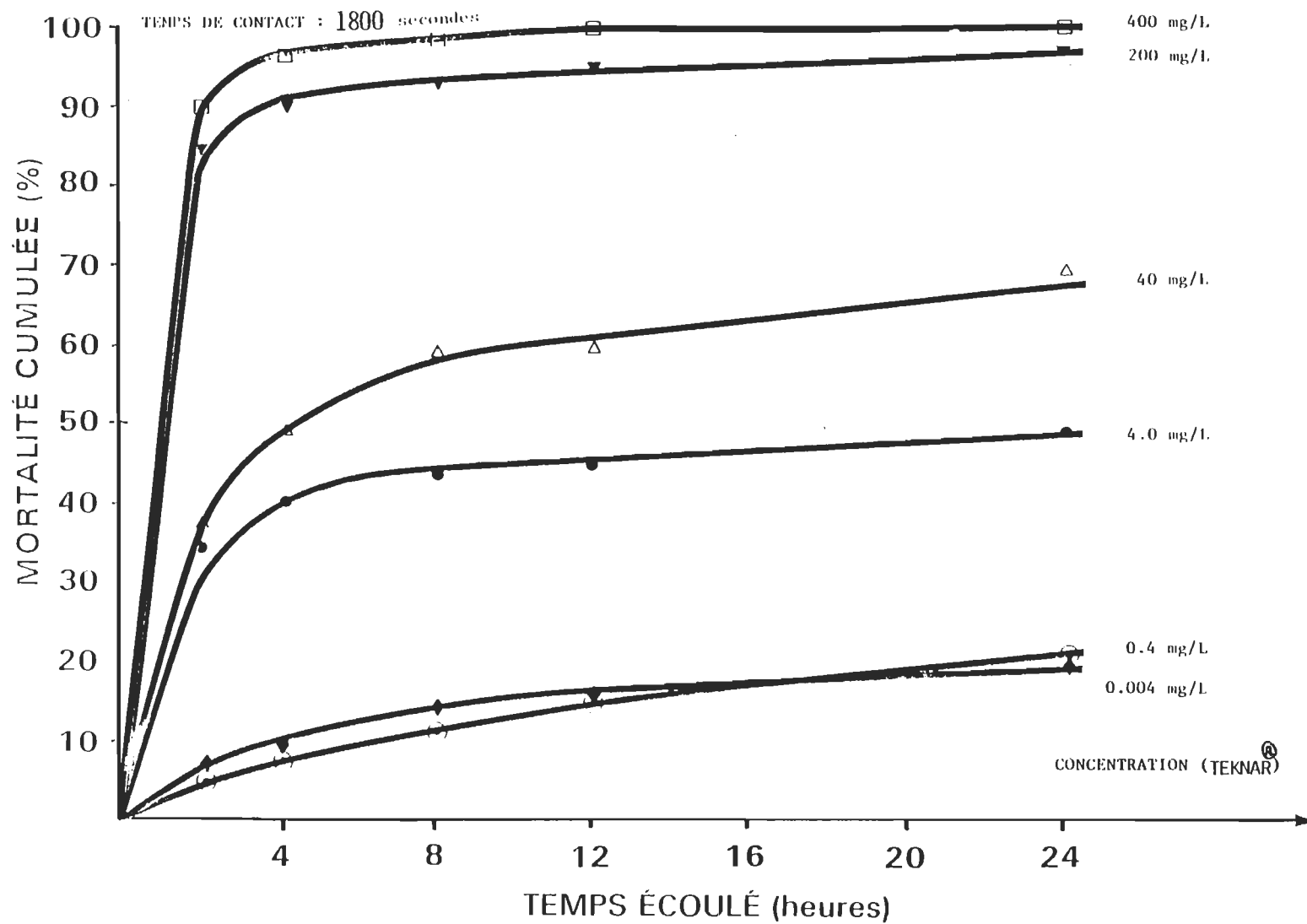


Figure no 19c Effet de la variation de la concentration sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Prosimulium gr. mixtum soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 12 degrés Celsius.

3. de façon générale, un accroissement de la concentration provoque une modification dans le profil de la cinétique, la mortalité survenant plus rapidement.
4. l'augmentation de la température favorise un accroissement du taux de mortalité observé pour une même concentration à une même heure de lecture. Modifiant ainsi le profil de la cinétique, un taux de mortalité défini (par exemple 50%) survient plus hâtivement pour une concentration plus élevée.
5. les relations existant entre le taux de mortalité, la concentration, les heures de lecture et la température sont de même nature pour l'une ou l'autre des espèces observées. Cependant, il semble délicat à ce stade-ci de l'étude, de déterminer s'il existe une différence significative entre ces deux espèces. On peut cependant noter, qu'à concentration égale, l'espèce d'hiver (Prosimulium gr. mixtum) semble plus affectée que l'espèce d'été (Simulium decorum) et ce, plus la température est basse.

Cependant, afin de mieux comprendre cette relation, il est préférable, tout comme dans le cas de l'étude de l'effet du temps de

contact, de délaissier le mode de représentation cinétique du phénomène et d'exposer le taux de mortalité en fonction de la concentration utilisée. Comme précédemment, de façon théorique, cette relation se traduit par une courbe sigmoïde asymétrique, relatant le pourcentage de réponse à la concentration employée. C'est donc dire qu'il existerait pour un temps de contact bien précis une concentration minimale, c'est-à-dire un seuil inférieur en deçà duquel il serait impossible de déclencher une réponse positive. De même que l'obtention d'un taux de réussite de 100% s'avère théoriquement difficile à atteindre, puisque l'augmentation de la concentration devient trop importante en fonction de l'accroissement du taux de mortalité.

Tout comme dans le cas de l'analyse de l'effet du temps de contact, l'utilisation des transformations logarithmiques et probits (PROB2 Analysis) permet de linéariser cette relation. Il est donc possible de déterminer les concentrations qui permettront l'élimination d'une certaine partie de la population, c'est-à-dire les "Doses Létales" (DL) (tableau #7). Une série de graphiques provenant de la compilation du taux de mortalité (probit) en fonction du logarithme de la concentration, dépeint le type de relation qui existent entre ces deux paramètres, pour un temps de contact fixe de 30 minutes, sous l'influence de la température, de l'heure de lecture et de l'espèce (figures #20a, 20b, 20c et #21a, 21b, 21c).

Espèce	III.	4°C			8°C			12°C			18°C		
		CL50%	CL90%	m	CL50%	CL90%	m	CL50%	CL90%	m	CL50%	CL90%	m
<u>Prosimulium</u>	2 h.							25	1311	0,748			
<u>gr. mixtum</u>	4 h.	480	3174	1,563	65	2114	0,849	10	572	0,737			
	6 h.												
	8 h.	276	2305	1,392	30	1146	0,812	5	324	0,734			
	10 h.												
	12 h.	355	1156	2,504	22	836	0,813	3	175	0,742			
	16 h.												
	20 h.												
	24 h.	169	1859	1,233	9	444	0,771	3	141	0,785			
	36 h.												
	48 h.	352	714	4,177									
<u>Simulium</u>	2 h.							130	2719	0,921	19	1482	0,679
<u>decorum</u>	4 h.	88290	10570963	0,617	6752	632060	0,650	49	1649	0,842	5	670	0,611
	6 h.							34	1332	0,806	2	207	0,660
	8 h.	28873	5444687	0,563	1734	79990	0,770	20	716	0,829	1	120	0,652
	10 h.												
	12 h.	19246	5460757	0,522	1295	75272	0,726	11	538	0,772	1	61	0,662
	16 h.												
	20 h.												
	24 h.	5007	1045383	0,552	661	41674	0,712	4	219	0,758	1	5	0,429

. III. : heure létale

. CL50% : concentration létal 50 %

. m : pente

Tableau no 7 Concentrations létales (DL) 50% et 90% et leur pente associée, pour Simulium decorum et Prosimulium gr. mixtum soumises à un temps de contact de 1800 secondes, à des températures de 4, 8, 12 et 18 degrés Celsius, aux différentes heures d'observation.

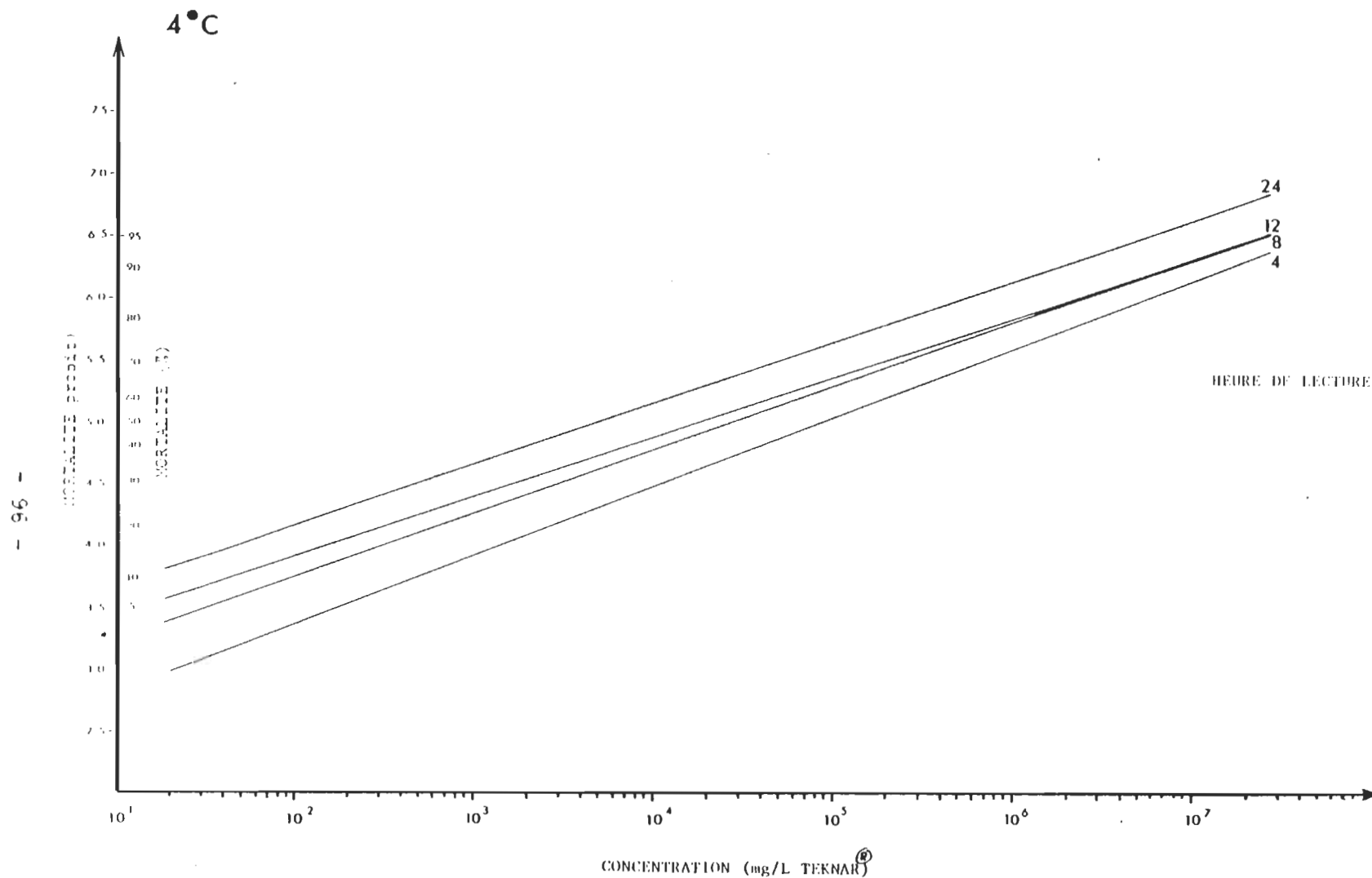


Figure no 20a Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez Simulium decorum soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 4 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.

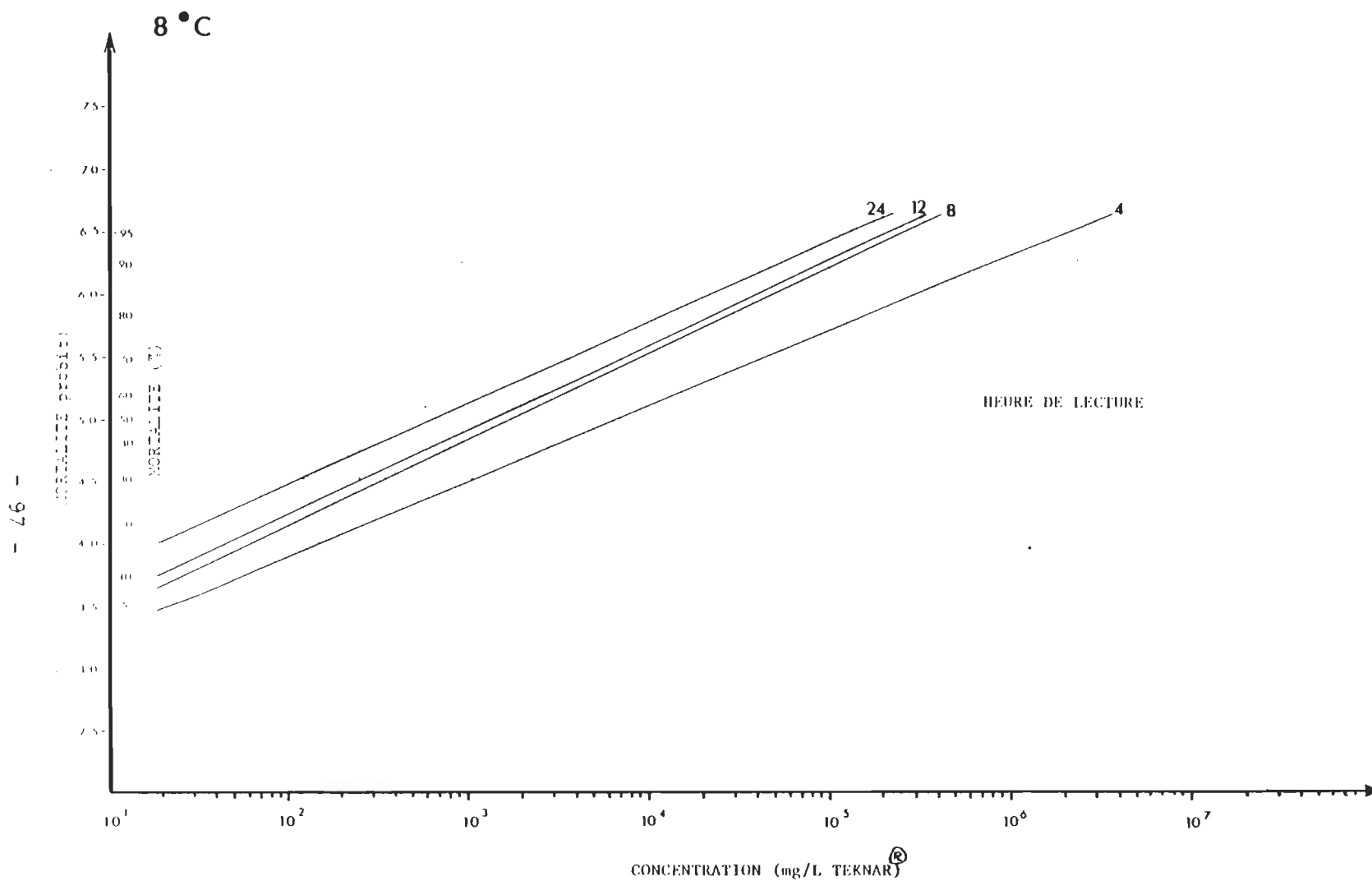


Figure no 20b Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez Simulium decorum soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 8 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.

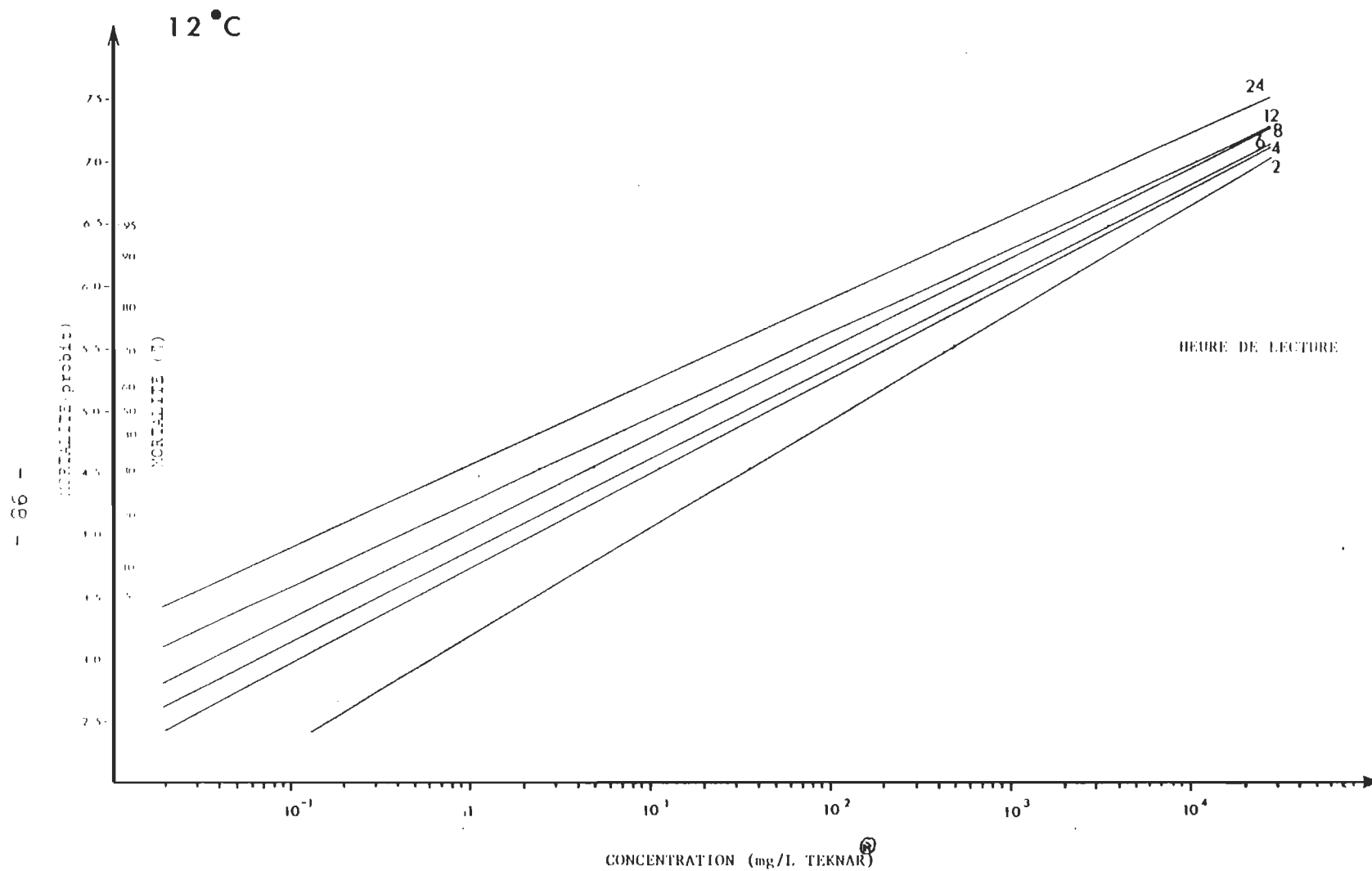


Figure no 20c Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez Simulium decorum soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 12 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.

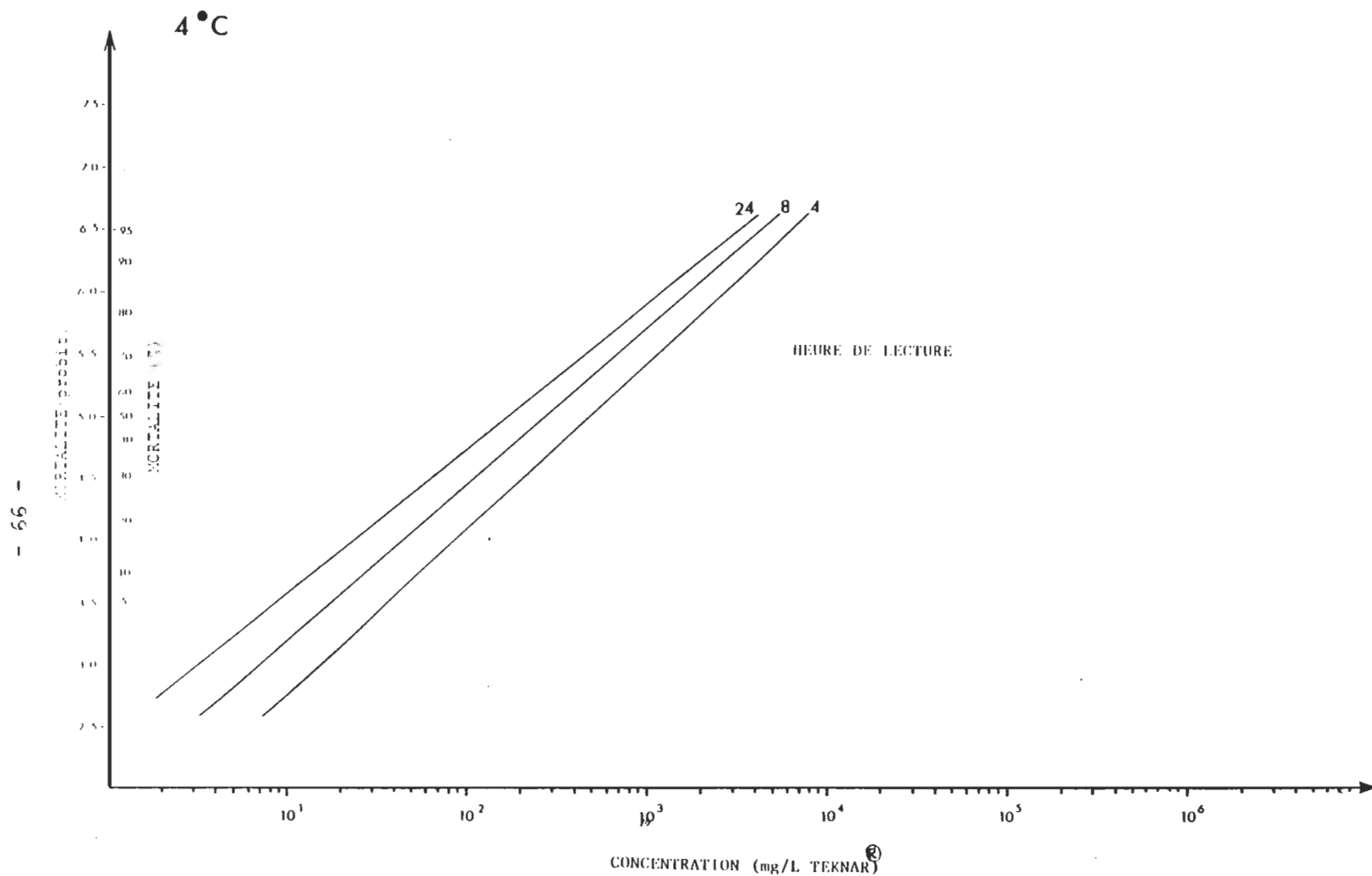


Figure no 21a: Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez Prosimulium gr. mixtum soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 4 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.

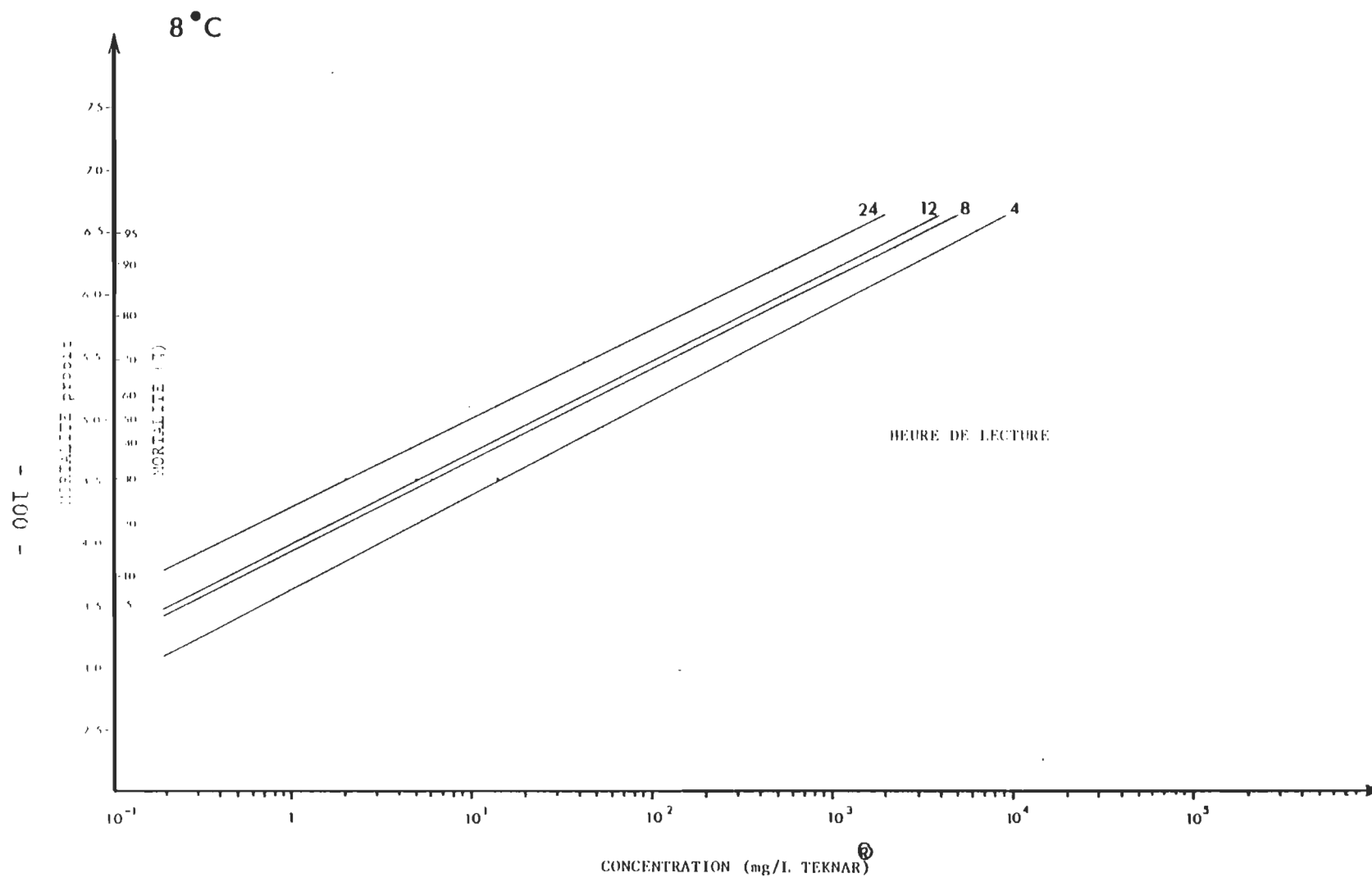


Figure no 21b Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez Prosimulium gr. mixtum soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 8 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.

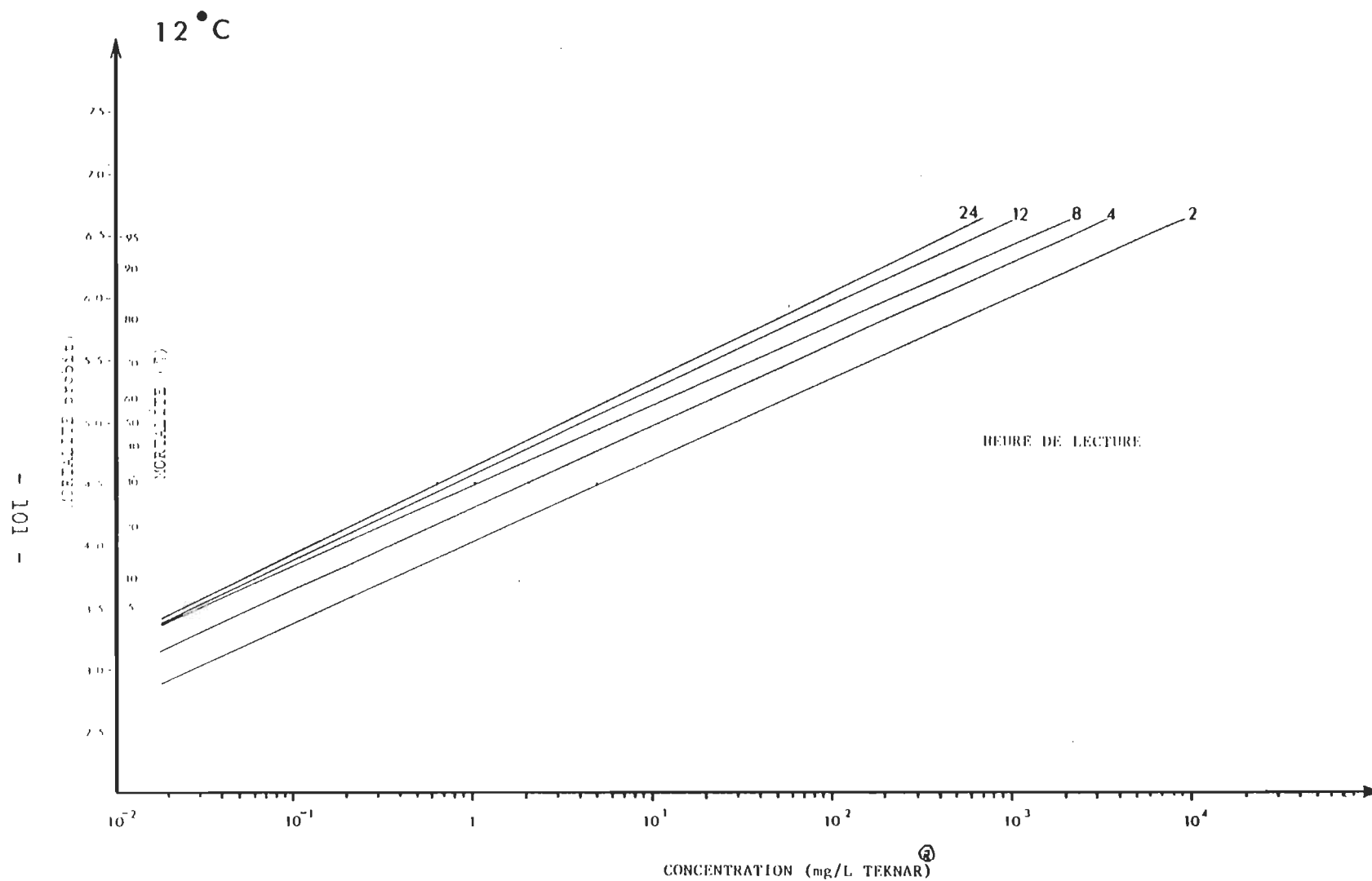


Figure no 21c Relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez Prosimulium gr. mixtum soumise à un temps de contact de 1800 secondes à une température de 12 degrés Celsius, aux différentes heures de lecture.

A ce stade, nous pouvons faire ressortir les considérations suivantes:

1. avec une augmentation de 1' heure de lecture, on observe globalement le déplacement de la relation vers la gauche, c'est-à-dire la zone où la concentration est moindre. La concentration nécessaire pour éliminer une certaine partie de la population étant plus petite si ce pourcentage d'élimination est visé sur une période de temps plus longue. La concentration nécessaire à l'élimination de 50% de la population, c'est-à-dire la DL50%, tend donc à diminuer à mesure que la période de temps d'exécution visée s'accroît (heure de lecture visée).
2. de même une augmentation de la température provoque le déplacement de la relation vers la zone où la concentration est moindre. La concentration nécessaire à l'élimination d'une certaine partie de la population, visée sur une période de temps fixé, diminue à mesure que la température augmente (tableau #7). La DL50% tend donc à diminuer en fonction de l'augmentation de la température.

3. de façon générale, l'effet de la variation de la température sur la relation, semble plus prononcé à basse température. Une augmentation de la température de 4 C à 8 C, provoque un abaissement beaucoup plus prononcé de la DL50%, qu'une augmentation de 8 C à 12 C (figure #22).

4. concernant une différence pouvant exister entre les deux espèces considérées, il semble que l'espèce d'été (Simulium decorum) possède de façon générale des concentrations létales (DL%) plus élevées que celles déterminées pour l'espèce d'hiver (Prosimulium gr. mixtum). Cette différence s'amointrissant à mesure que l'heure de lecture visée pour l'élimination d'une certaine partie de la population s'accroît. Cette différence diminue également rapidement à mesure que la température augmente.

En compilant les données du tableau #7 en fonction des pentes associées à chacune des DL50%, il est possible de vérifier à l'aide d'une analyse multivariée de variance et de covariance, s'il existe une différence significative entre les pentes associées aux diverses espèces placées aux différentes températures. Concernant l'espèce d'hiver (Prosimulium gr. mixtum), il fut déterminé qu'une différence significative (0,05) existait entre la moyenne des pentes associées

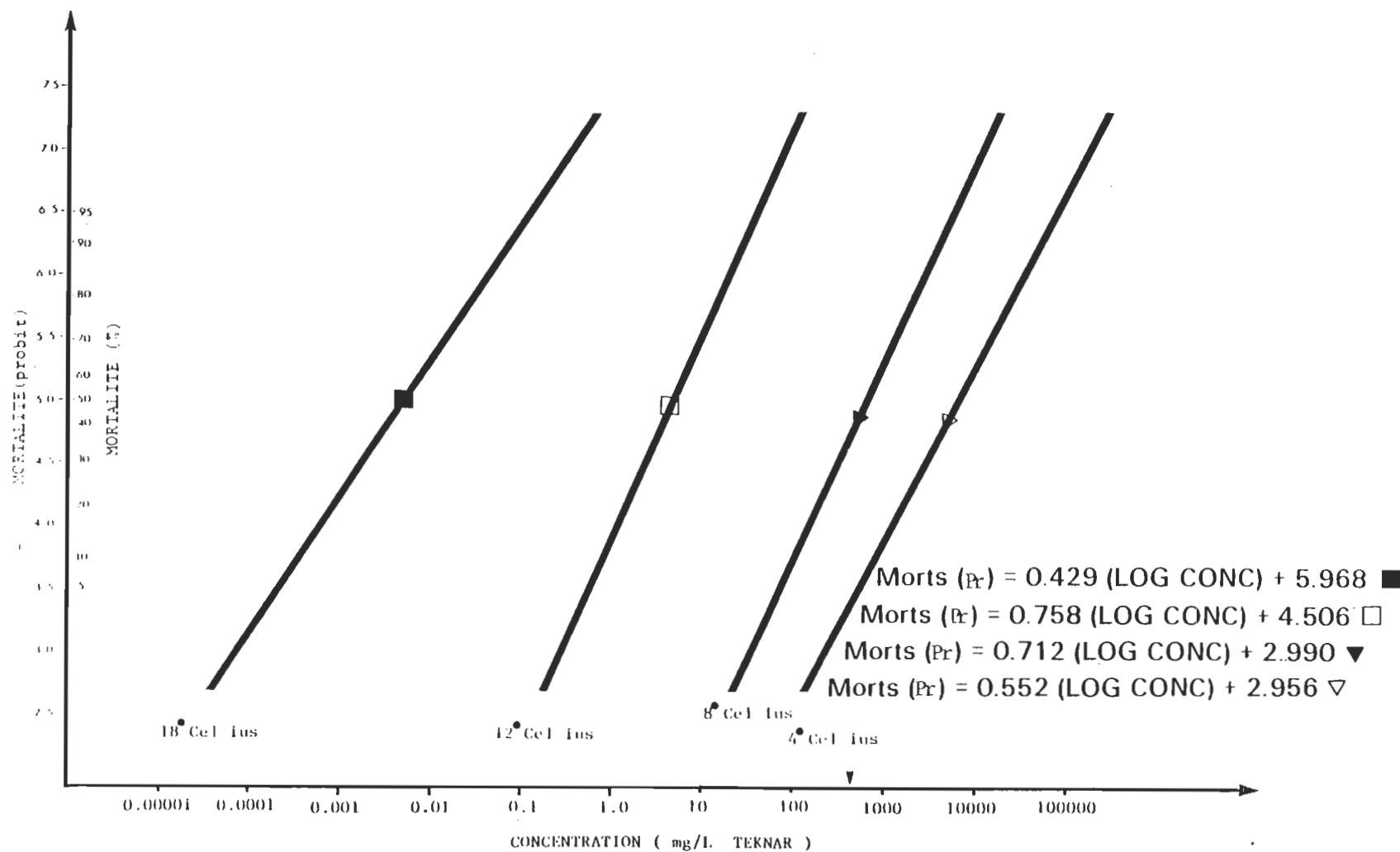


Figure no 22 Effet d'une variation de la température sur la relation existant entre le Probit (Pr) de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez Simulium decorum soumise à un temps de contact de 1800 secondes, observée après une période de 24 heures.

aux diverses températures. Cette moyenne diminue lorsque la température augmente. Chez l'espèce d'été (Simulium decorum) il existe une différence significative entre la moyenne des pentes associées à 4 ($0,563 \pm 0,039$), 8 ($0,714 \pm 0,049$) et 12 ($0,829 \pm 0,076$) degrés Celsius. La moyenne des pentes à 18 degrés Celsius ($0,615 \pm 0,094$) ne démontre aucune différence significative envers celles associées à 4 et 8 degrés Celsius. La moyenne des pentes augmente avec l'accroissement de la température jusqu'à 12 degrés Celsius, pour diminuer par la suite. Pour toutes les températures utilisées, les pentes démontrent une discrimination significative entre les deux espèces, cette différence s'amoindrissant lorsque la température augmente.

Tout comme dans le cas de l'étude sur l'influence du temps de contact, la suite logique serait de définir l'influence exercée par le temps d'exécution visé, la température et l'espèce, sur la relation maintenant définie, existant entre le pourcentage de mortalité et la concentration.

IV.1.3 VARIATION DU PH

Cette série d'expériences fut conduite sur l'espèce d'été (Simulium decorum), à deux différentes températures, pour deux concentrations appliquées durant une période de 30 minutes. Le pH du milieu varie de 4,5 à 9,0. Les observations sont notées aux différentes

heures successives afin de suivre la progression du phénomène de toxicité sous l'influence du pH (figure #23).

Nous obtenons donc comme résultats, le nombre d'individus morts suite à un traitement à une concentration déterminée (4 mg ou 400 mg de TEKNAR par litre) , pour un temps de contact de 30 minutes, à pH choisi, à chacune des heures de lecture suivant le début du traitement, et ce pour Simuliun decorum à 4 et 12 degrés Celsius. Ce qui nous permet d'établir une série de trois graphiques (figures #24a, 24b, 24c) représentant la cinétique de l'intoxication sous l'influence des différents pH, de la concentration et de la température. L'examen de ces graphiques permet de mettre en évidence les considérations suivantes:

1. comme précédemment, le taux de mortalité progresse en fonction du temps écoulé, jusqu'à atteindre un certain plateau.
2. pour une même heure de lecture, le taux de mortalité augmente proportionnellement en fonction de l'accroissement du pH du milieu. De façon générale, un accroissement du pH provoque une modification dans le profil de la cinétique: la mortalité survenant plus hâtivement lorsqu'il se produit une alcalinisation du milieu.

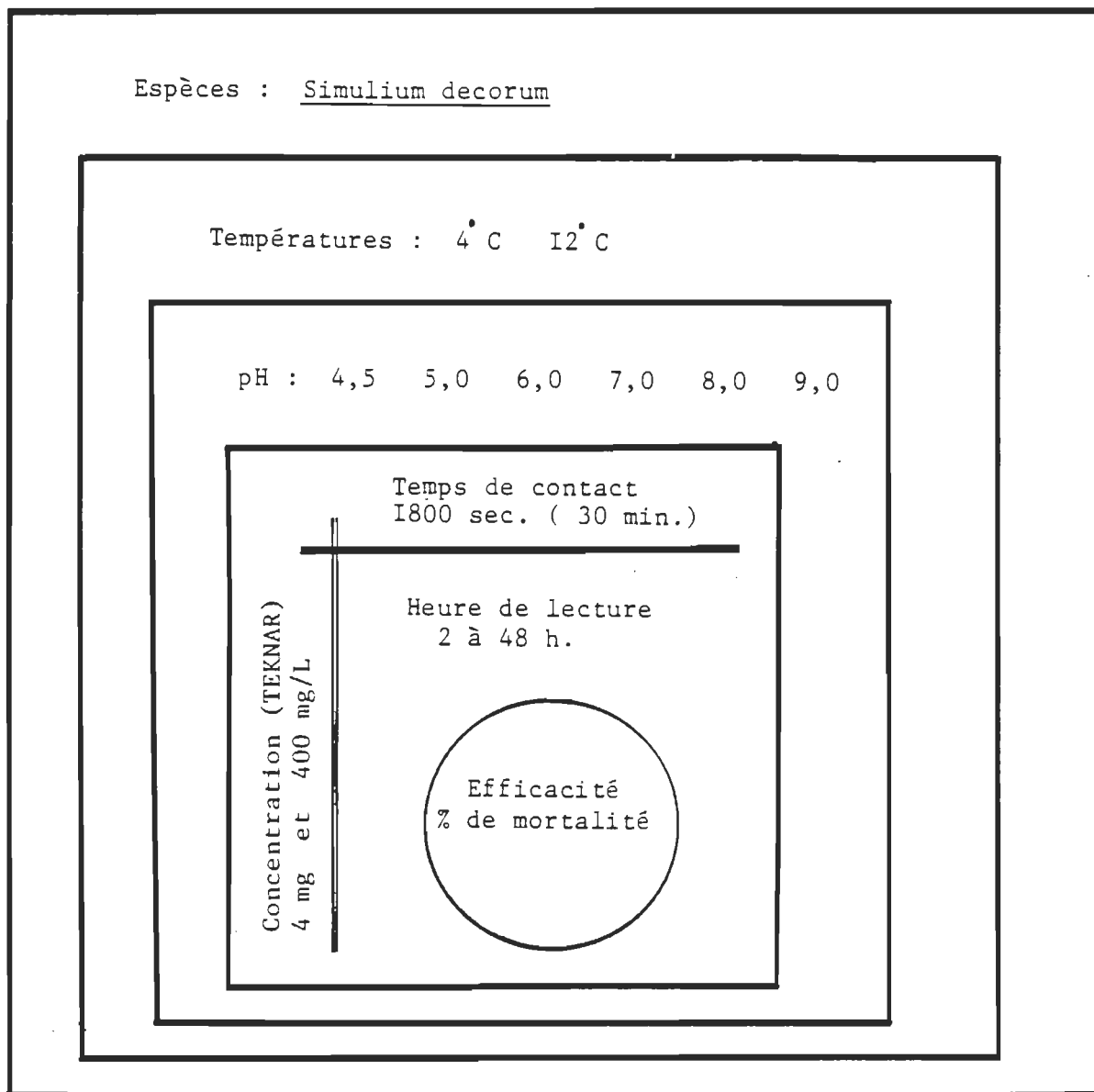


Figure no 23 Paramètres sélectionnés lors de l'analyse de l'effet du pH sur le potentiel larvicide du Bacillus thuringiensis serovariété israelensis.

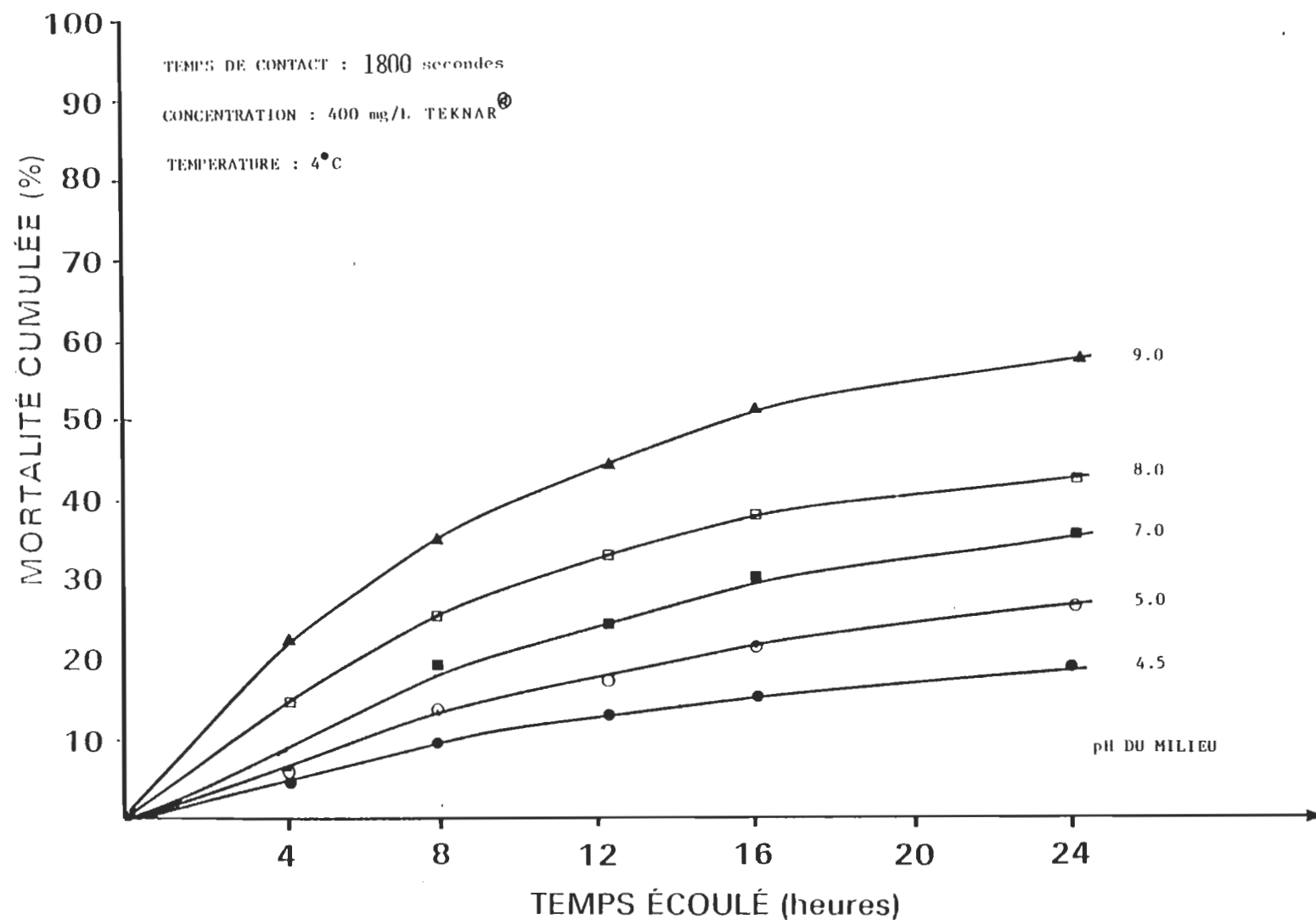


Figure no 24a Effet d'une variation du pH du milieu sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Simulium decorum soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNA® à une température de 4 degrés Celsius, observée après une période de 24 heures.

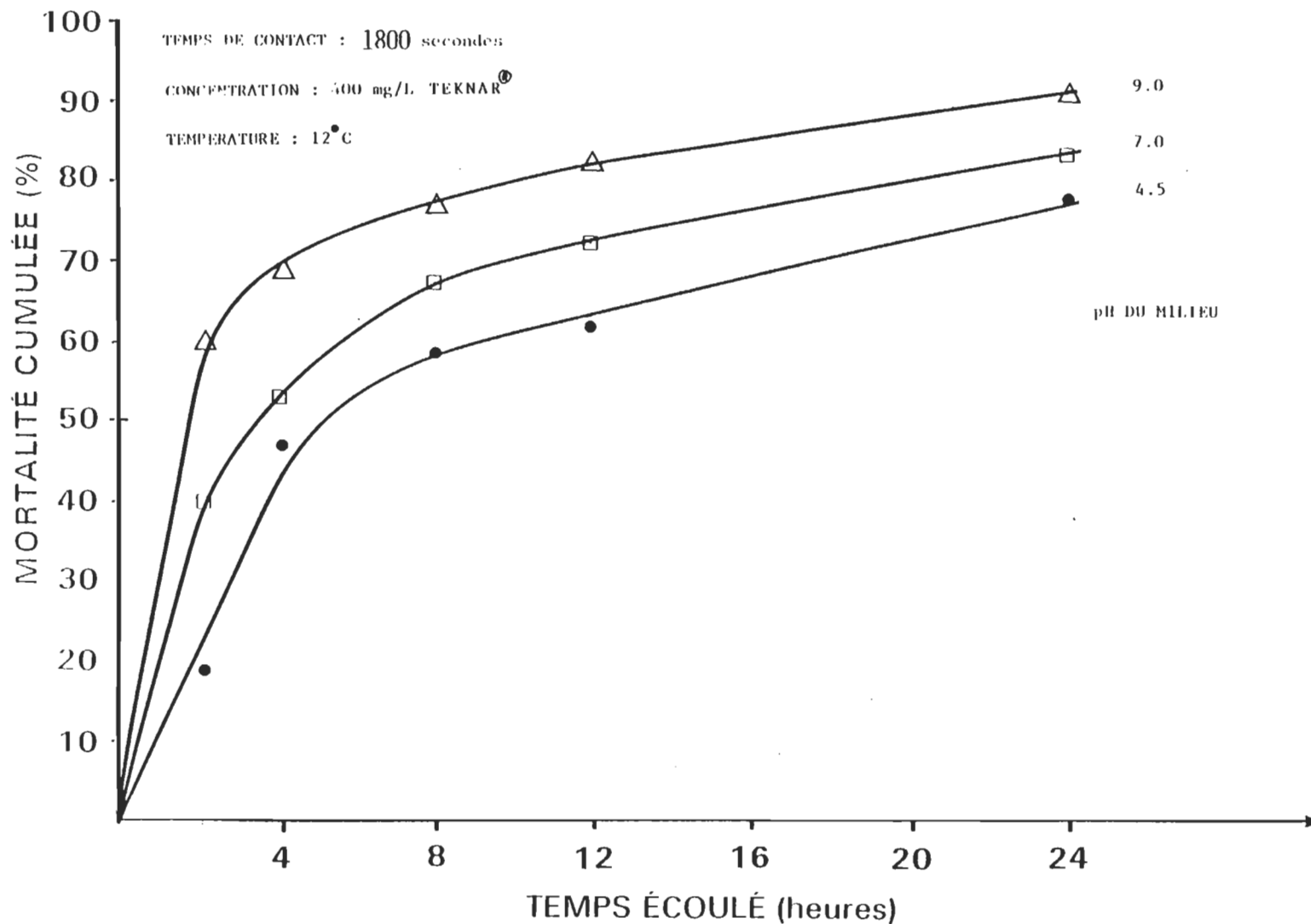


Figure no 24b Effet d'une variation du pH du milieu sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Simulium decorum soumise à une concentration de 400 mg/L de TEKNA® à une température de 12 degrés Celsius, observée après une période de 24 heures.

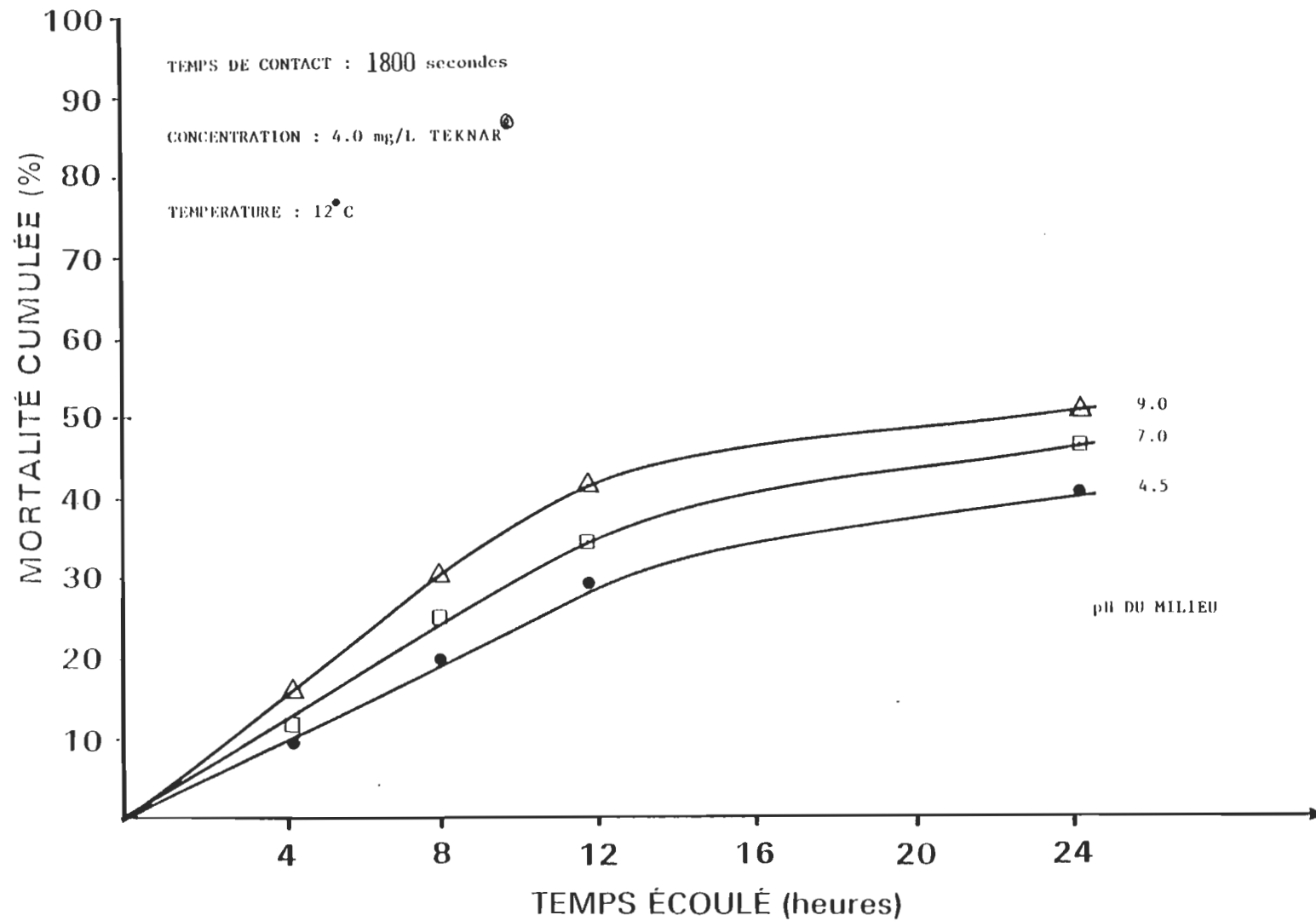


Figure no 24c Effet d'une variation du pH du milieu sur la cinétique d'apparition de la mortalité chez Simulium decorum soumise à une concentration de 4 mg/L de TEKNA à une température de 12 degrés Celsius, observée après une période de 24 heures.

3. de façon générale, il semble que l'influence de la variation du pH du milieu soit de même rapport peu importe la concentration en insecticide utilisée. Cependant cette influence du pH du milieu sur le potentiel larvicide du B.t.i. (Teknar) semble plus prononcée lorsqu'il se produit un abaissement de la température de ce même milieu.

Tenant compte du fait de l'utilisation de l'eau distillée non déminéralisée (pH = 6,8) comme support expérimental aux diverses épreuves, l'influence du changement de pH du milieu expérimental sera évaluée à partir du pH de référence de 7,0 (tampon composé de Na_2HPO_4 10mM dans une solution de NaH_2PO_4 10 mM), pH se rapprochant le plus de celui du type d'eau couramment utilisée. En compilant le taux de mortalité observé après 24 heures suivant le début du traitement, en fonction du pH du milieu expérimental, nous obtenons un graphique représentant l'influence du pH sur le taux de mortalité, et ce pour deux températures et deux concentrations, pour un temps de contact de 30 minutes sur l'espèce d'été (Simulium decorum) (figure #25).

1. dans tous les cas, on note une très forte corrélation (0,94 à 0,99) entre l'accroissement du taux de mortalité et l'augmentation du pH du milieu. Une augmentation du pH au

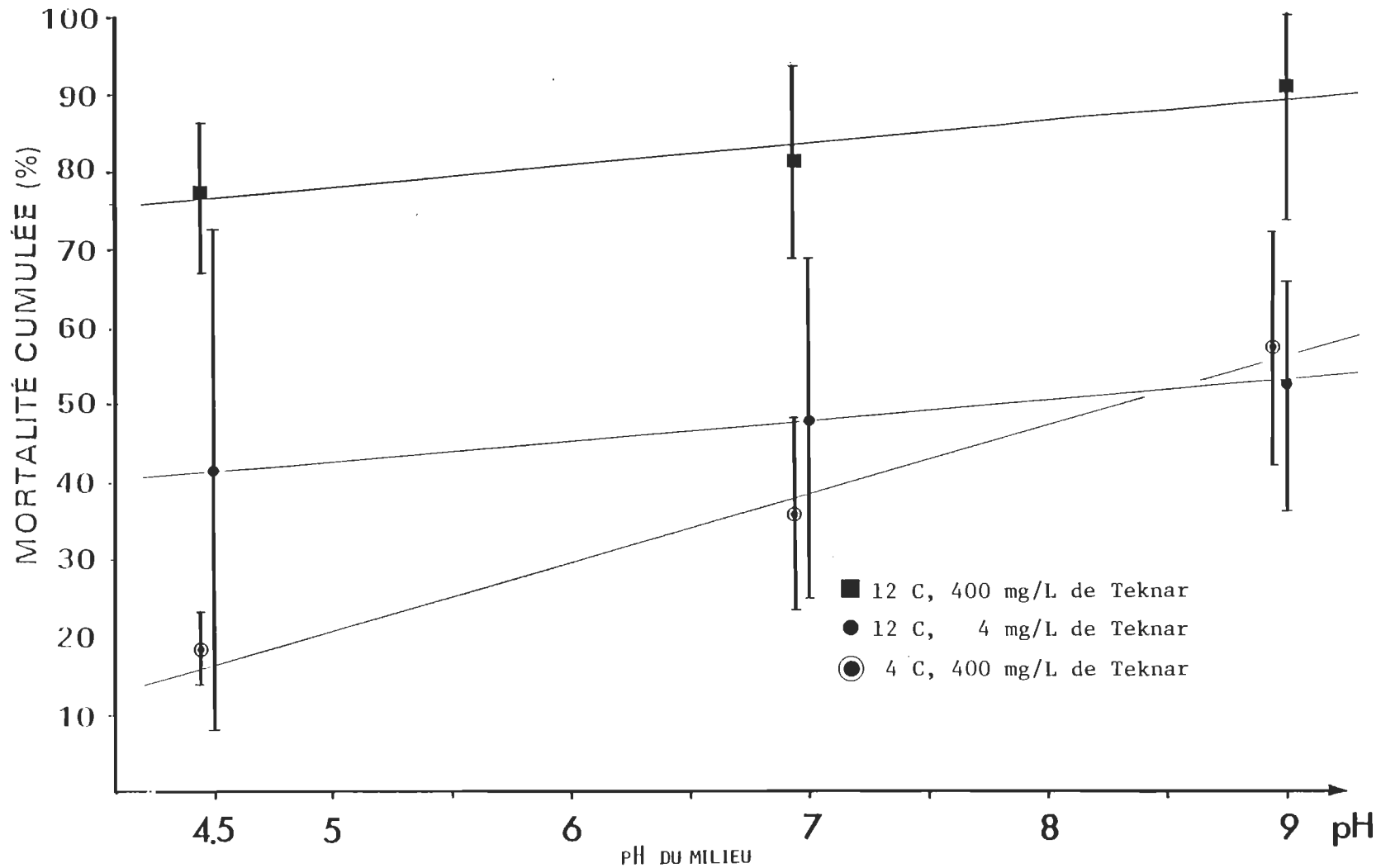


Figure no 25 Relation existant entre le pourcentage de mortalité, la température et le pH du milieu chez Simulium decorum, observée après une période de 24 heures.

dessus du pH de référence 7,0 provoque un accroissement du taux de mortalité, tandis qu'une diminution du pH sous le pH de référence provoque un abaissement .

2. cet accroissement du taux de mortalité en fonction de l'augmentation du pH est de même rapport pour une même température. A 12 degrés Celsius, la pente de la régression associée à la concentration de 400 mg. de TEKNAR par litre, est de $2,693 \pm 0,968$, et la pente associée à la concentration de 4 mg par litre est de $2,179 \pm 0,014$. Une variation de la concentration ne semble pas modifier significativement la relation.

3. cependant, à concentration identique, le rapport entre le taux de mortalité et le pH ne semble pas de même valeur à températures différentes. Pour une concentration de 400 mg par litre, la pente associée à une température de 12 degrés Celsius est de $2,693 \pm 0,968$, tandis que celle associée à une température de 4 degrés Celsius est de $7,456 \pm 1,167$. L'effet d'une variation du pH semble donc se faire ressentir plus fortement à basse température.

L'influence du pH sur les relations affectant le taux de mortalité peut être modélisée, tout comme pour les autres paramètres.

CHAPITRE V

DISCUSSIONS

V.1 ANALYSE CINÉTIQUE DU PHÉNOMÈNE D'APPARITION DE LA MORTALITÉ

En considérant de façon globale les divers résultats expérimentaux, nous constatons que malgré l'influence des divers paramètres du milieu, les premières mortalités surviennent très rapidement; intervenant dans l'heure qui suit le début du traitement (figures #7, 8, 18, 19). Des observations analogues furent produites par Lacey et Fédérici (1979), Guillet et de Barjac (1979) ainsi que par Undeen et Colbo (1980). L'effet toxique est donc engendré par la présence d'un composé potentiellement actif dans la formulation. Aucune bactériémie occasionnée par le Bacillus thuringiensis variété israelensis ne survenant chez les larves de mouche noire (Lacey et Fédérici, 1979). L'évolution du taux de mortalité observé en fonction du temps écoulé, c'est-à-dire la cinétique d'apparition (progression de la "somme des mortalités"), est modifiée par une variation du temps de contact, de la concentration, de la température et du pH; et ce pour toutes les espèces étudiées.

Le temps de contact est l'un des facteurs qui affectent la probabilité de rencontre entre une larve et une certaine quantité de produit toxique (cristaux). Ainsi, à concentration fixe de particules, une prolongation du temps de contact accroît la probabilité qu'une larve ingère une quantité suffisante pour occasionner un effet toxique. Le temps de contact létal 50% (TCL50%) est donc la période d'exposition pour laquelle la probabilité qu'une larve subisse un effet toxique soit de 5,0 (probabilité d'intoxication de 0,5); produisant par conséquent l'élimination de 50% de la population. L'étude des variations de la durée de la période post-traitement où survient 50% de mortalité, en fonction des modifications du temps de contact, démontre qu'un accroissement de la période d'exposition accélère l'apparition de la mortalité (tableau #8). En effet, une augmentation du temps de contact provoque une diminution de la période de temps nécessaire à l'apparition de 50% de mortalité, ce, jusqu'à l'obtention d'un certain plateau (figures #26a, 26b). L'analyse de ces résultats nous amène à postuler, l'existence d'un "temps de contact minimal" nécessaire à la capture d'une certaine quantité de particules suffisante pour engendrer un effet toxique. Cette quantité de particules étant la sommation des "unités de capture" ingérées, c'est-à-dire la sommation de chacune des particules capturées par un éventail céphalique et ingérées par les pièces buccales. La durée de ce "temps de contact minimal" est également régie par la probabilité d'intoxication; plus la probabilité est élevée, plus le "temps de contact minimal" sera prolongé. Il existe également un "temps de contact maximal" au-delà duquel une prolongation de la période

d'exposition n'occasionne plus de diminution de la période de temps nécessaire à l'élimination d'une certaine partie de la population.

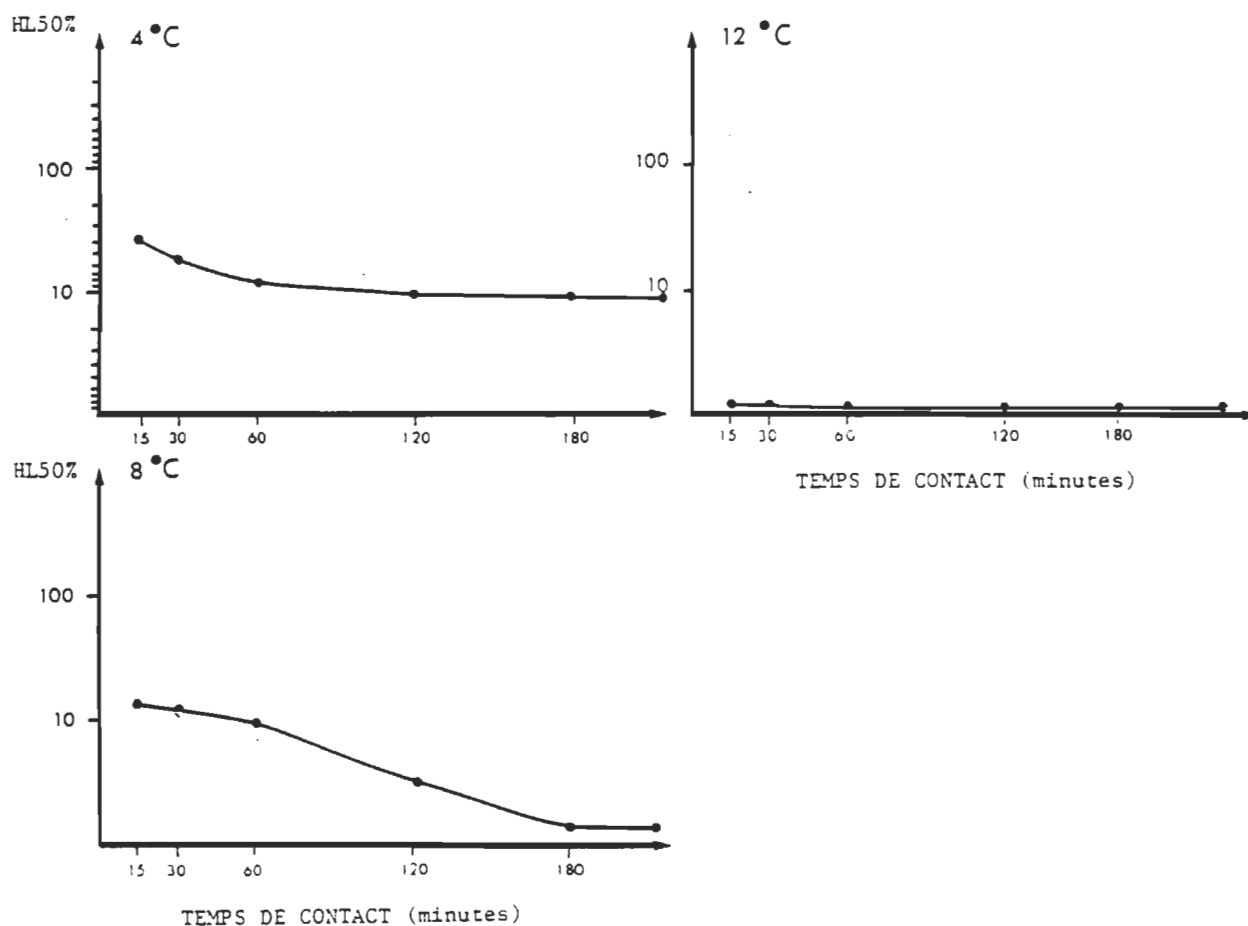
Si le phénomène de toxicité dépend obligatoirement d'une activation de l'endotoxine par des enzymes protéolytiques associés aux protéines de la digestion (Faust et al., 1967), combinée à une dissolution à pH alcalin au niveau de l'intestin (Lacey et al., 1978); alors, de façon schématisée, chaque "unité de capture" ingérée, (N.B. afin de simplifier l'interprétation du phénomène, les "unités de capture" sont à dessein considérées comme identiques) libérera une certaine quantité de toxine par unité de temps. Quantité déterminée par l'activité métabolique qui prévaut à ce moment. Si chacune de ces petites quantités altèrent un certain nombre de cellules épithéliales, sachant que l'extension du temps de contact engendre un accroissement du nombre de particules absorbées (Kurtak, 1978); il est admissible de concevoir qu'il se produirait alors une sommation temporelle des effets de chacune de ces petites quantités toxiques, au fur et à mesure de leur ingestion (figure #27). Après un certain temps, les dommages occasionnés au système digestif seraient suffisamment sérieux pour engendrer un stress provoquant un arrêt de la filtration. Quelques observations fortuites du comportement nutritionnel des larves de Simulium decorum, nous permirent de noter une variation de la posture associée à l'activité de filtration. Contrairement aux larves saines qui filtrent en exécutant une torsion de 180 degrés de leur corps pour exposer les deux éventails

Espèce	4°C		8°C		12°C		18°C	
	TC	HL50%	TC	HL50%	TC	HL50%	TC	HL50%
<u>Prosimulium</u>	900	225,08	900	36,69	900	2,77		
<u>gr. mixtum</u>	1800	25,67	1800	-	1800	1,31		
	3600	17,74	3600	0,76	3600	0,57		
	7200	14,66	7200	1,49	7200	0,68		
	10800	3,86	10800	2,10	10800	1,45		
	14400	10,63						
<u>Simulium</u>	900	69,51	900	37,44	900	1,09	1800	0,60
<u>decorum</u>	1800	54,66	1800	34,22	1800	0,49		
	3600	21,78	3600	10,16	3600	0,18		
	7200	12,55	7200	8,14				
	10800	12,98	10800	4,35				
	14400	10,23	14400	4,71				

. TC : temps de contact en seconde

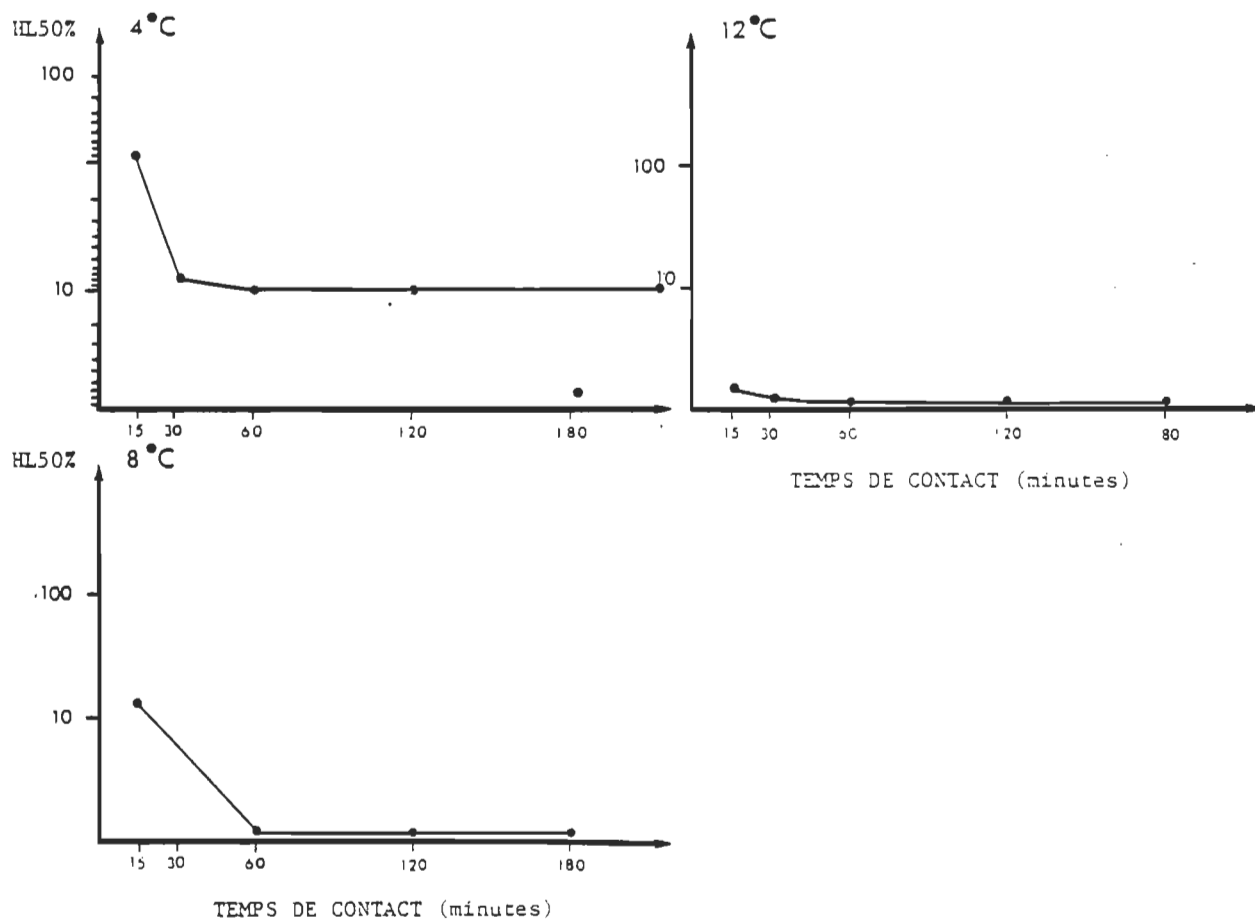
. HL : heure à laquelle apparaît 50 % de mortalité

Tableau no 8 Variation de la période au terme de laquelle il s'est produit 50% de mortalité (HL50%) chez les larves de Simulium decorum et Prosimulium gr. mixtum soumises à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR®, en fonction des différents temps de contact, à 4, 8, 12 et 18 degrés Celsius.



HL : heure à laquelle apparaît 50 % de mortalité

Figure no 26a Relation existant entre la période au terme de laquelle il s'est produit 50% de mortalité (HL50%) et le temps de contact chez les larves de Simulium decorum soumises à une concentration de 400 mg/L de TEKNA[®], à 4, 8 et 12 degrés Celsius.



HL : heure à laquelle apparaît 50 % de mortalité

Figure no 26b Relation existant entre la période au terme de laquelle il s'est produit 50% de mortalité (HL50%) et le temps de contact chez les larves de Prosimulium gr. mixtum soumises à une concentration de 400 mg/L de Teknar, à 4, 8 et 12 degrés Celsius.

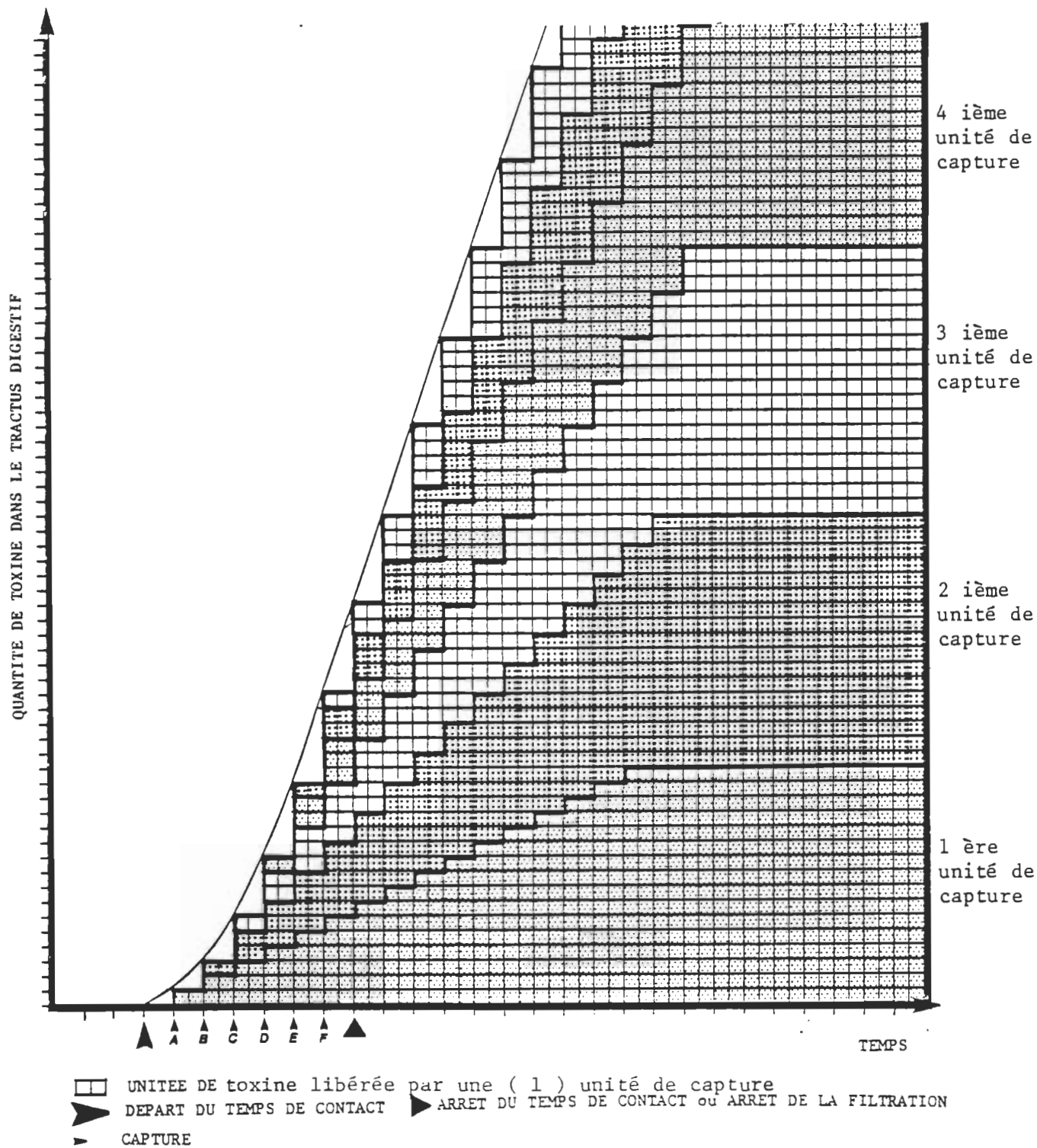


Figure no 27 Représentation schématique du devenir des "Unités de Capture" ingerées, dans le système digestif d'une larve de mouche noire.

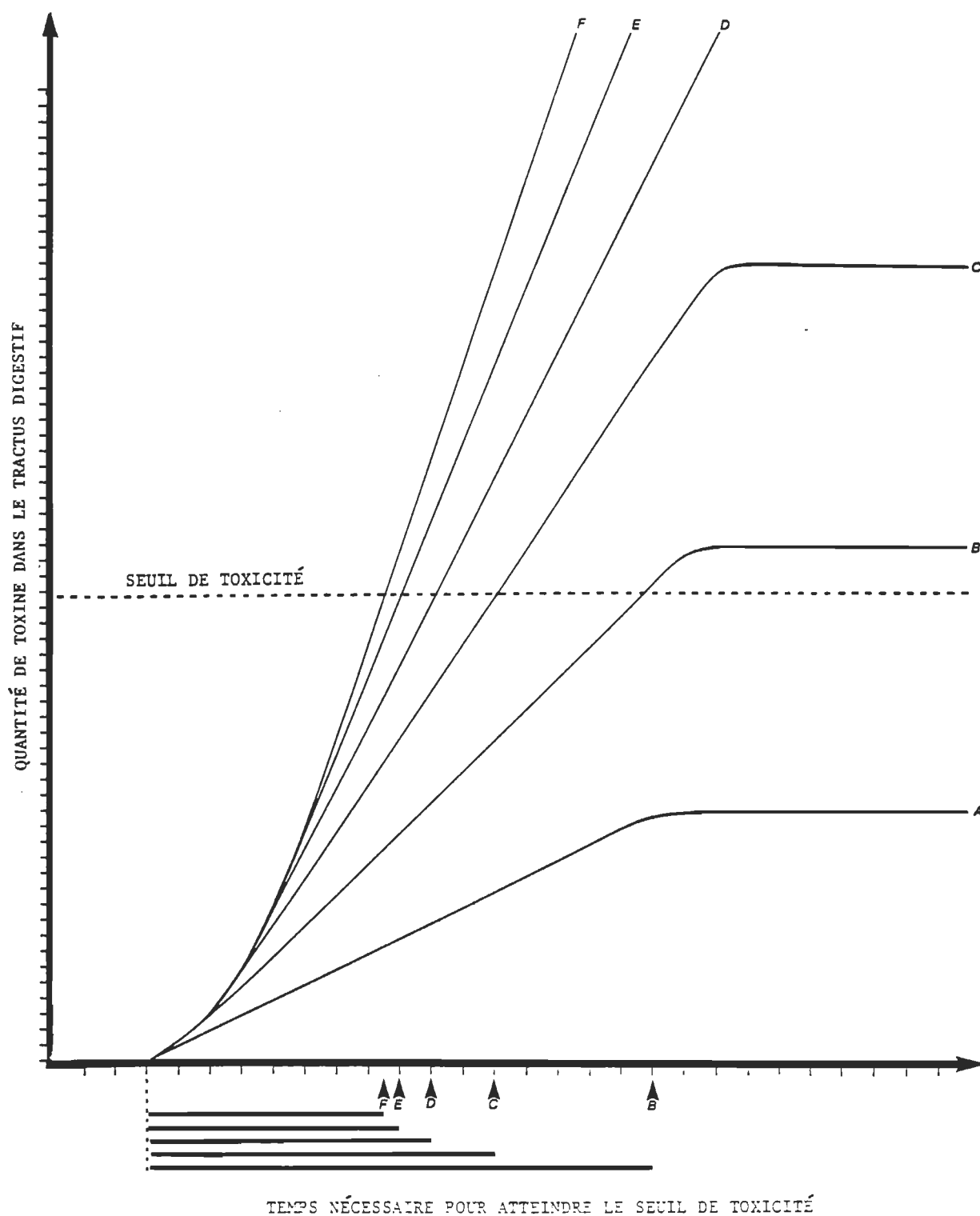


Figure no 27b Representation schematique du devenir des "Unités de Capture" ingérées, dans le système digestif d'une larve de mouche noire.

céphaliques complètement déployés, les larves soumises à cette formulation insecticide n'exécutent, après un certain temps, qu'une torsion partielle et n'exposent au courant que des éventails partiellement déployés, avant de cesser toute activité de filtration. Lacey et Federici (1979) observèrent également une diminution significative du taux de filtration après une exposition de 30 minutes, lors d'une expérimentation à 19 degrés Celsius sur des larves de Simulium (Psilozia) vittatum. Cet arrêt de filtration ne permet donc plus l'ingestion de nouvelles "unités de capture", d'où l'existence d'un "temps de contact maximal".

On pourrait considérer comme "seuil de toxicité" la quantité globale de toxine libérée à partir d'un certain nombre "d'unités de capture" ingérées, provoquant des dommages suffisants pour engendrer la mort de l'individu. Ce "seuil de toxicité" étant atteint plus rapidement à mesure qu'il se produit une sommation temporelle des effets de chacune de ces "unités de capture". C'est donc dire qu'une augmentation du temps de contact engendrant un accroissement du nombre "d'unités de capture" ingérées successivement, les effets toxiques de chacune de ces "unités" s'additionneront au fur et à mesure de leur ingestion (considérant que l'activation est constante) permettant ainsi d'atteindre plus rapidement le seuil de perturbation nécessaire pour engendrer un effet létal (figure #27). Une augmentation de la période d'exposition, entre

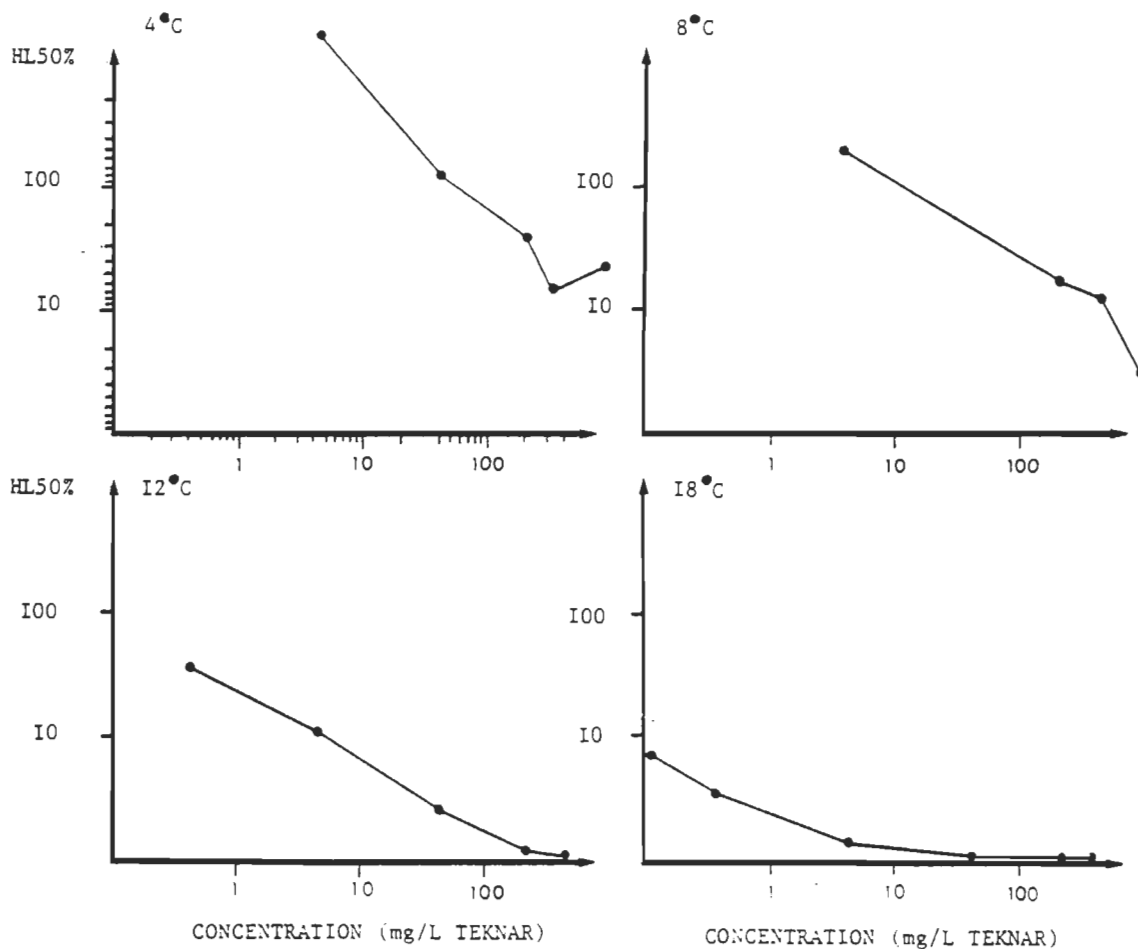
les "temps de contact minimal et maximal", engendre donc une diminution rapide allant en s'estompant, de la période de temps nécessaire à l'apparition d'un certain pourcentage de mortalité. Par conséquent, le moment pour lequel l'augmentation de la vitesse d'apparition d'un certain taux de mortalité vaut l'investissement au niveau de la prolongation du temps d'exposition, est le "temps de contact optimal" (figure #27).

L'observation d'un seuil inférieur au niveau de la période de lecture, dans la relation existant entre la période de temps nécessaire à l'apparition de 50% de mortalité et la durée du temps de contact, propose également l'existence d'une période de temps minimale nécessaire avant l'apparition de l'effet toxique chez 50% de la population. Cette période minimale correspondant au temps moyen nécessaire à la libération et à l'action d'une quantité toxique telle que la probabilité de mourir que possède une larve en y étant soumise, soit de 0,5.

Le même raisonnement peut également s'appliquer à l'étude de l'influence de la variation de la concentration sur la cinétique d'apparition de la mortalité. En effet, la concentration est aussi l'un des facteurs affectant la probabilité de rencontre entre une larve et un certain nombre de cristaux. Ainsi, pour un temps de contact fixe, un

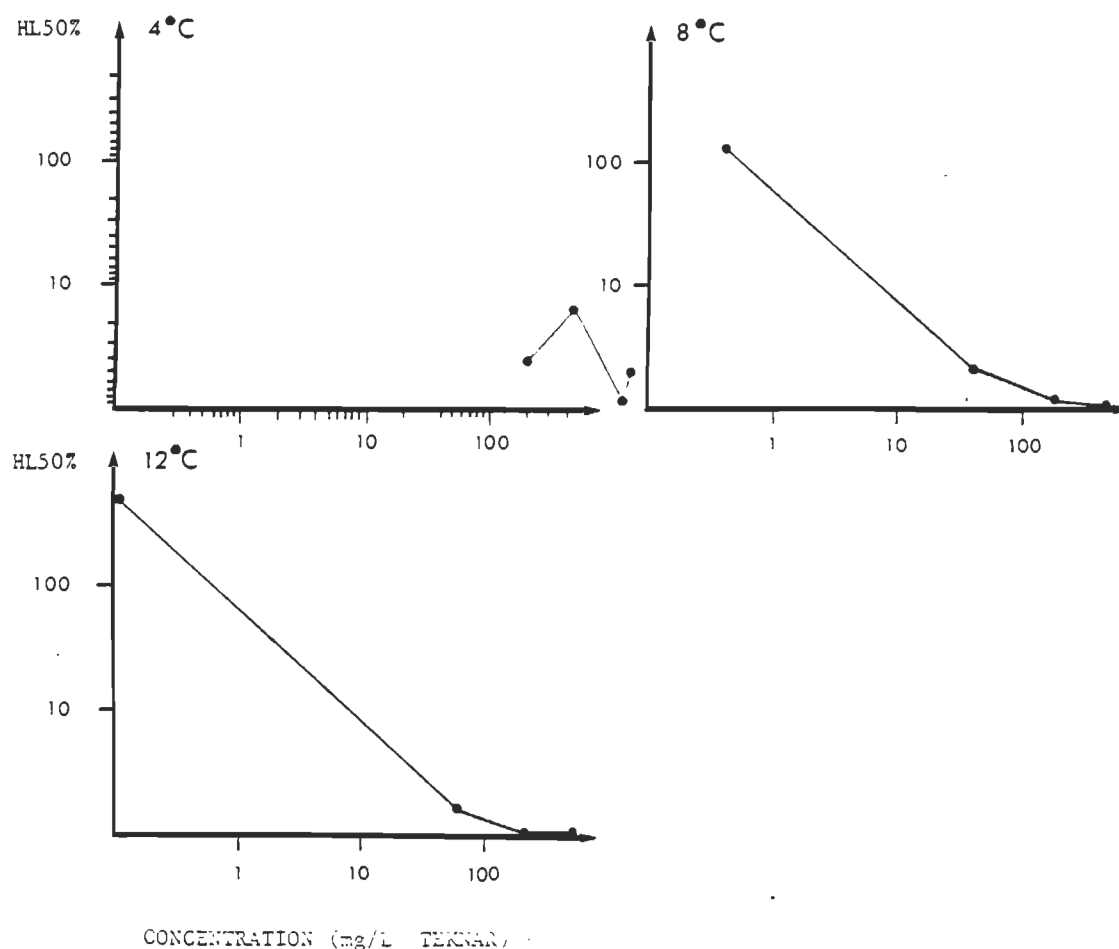
accroissement du nombre de particules disponibles (concentration) augmente la probabilité qu'une larve ingère une quantité de particules suffisante pour occasionner un effet toxique. La concentration létale 50% (CL50%) serait donc la quantité de particules disponibles pour laquelle la probabilité qu'une larve subisse un effet toxique, soit de 0,5; produisant par conséquent l'élimination de 50% de la population. Un accroissement de la concentration accélère donc, elle aussi, l'apparition de la mortalité (tableau #9). Effectivement, une augmentation de la concentration provoque une diminution de la période de temps nécessaire à l'apparition de 50% de mortalité, ce jusqu'à l'obtention d'un certain plateau (figure #28a, 28b). Suivant le même cheminement logique, il existerait donc une "concentration minimale", en deçà de laquelle, pour tous temps de contact utilisés, il est impossible d'accumuler une quantité de particules suffisante pour occasionner un effet toxique; les "unités de capture" étant trop petites. Cette "concentration minimale" augmente tout comme le "temps de contact minimal", en fonction de l'accroissement de la probabilité d'intoxication désirée.

Une augmentation du nombre de particules disponibles suscite un accroissement du volume des "unités de capture", cet accroissement ne pouvant excéder la capacité de support physique d'un éventail céphalique. Cette saturation physique du système de filtration, couplée à une saturation physiologique du système enzymatique par le très grand



HL : heure à laquelle apparaît 50 % de mortalité

Figure no 28a Relation existant entre la période au terme de laquelle il s'est produit 50% de mortalité (HL50%) et le logarithme de la concentration chez les larves de *Simulium decorum* soumises à un temps de contact de 1800 secondes, à 4, 8 et 12 degrés Celsius.



HL : heure à laquelle apparaît 50 % de mortalité

Figure no 28b Relation existant entre la période au terme de laquelle il s'est produit 50% de mortalité (HL50%) et le logarithme de la concentration chez les larves de Prosimum gr. mixtum soumises à un temps de contact de 1800 secondes, à 4, 8 et 12 degrés Celsius.

nombre de cristaux ingérés, traduit bien, en partie, l'existence d'une "concentration maximale" au-delà de laquelle il n'y a plus de diminution de la période de temps nécessaire à l'élimination d'une certaine partie de la population. Une augmentation de la concentration suscitant un accroissement des "unités de capture", ces dernières libéreront des quantités plus importantes de toxine, dont la sommation temporelle des effets sur les cellules épithéliales permet d'atteindre plus rapidement le "seuil de toxicité". Une augmentation du nombre de particules disponibles, entre la "concentration minimale et maximale", engendre une diminution rapide allant en s'estompant, de la période de temps nécessaire à l'apparition d'un certain pourcentage de mortalité. La concentration pour laquelle l'augmentation de la rapidité est la plus rentable en fonction de l'investissement en produit utilisé, est la "concentration optimale".

L'obtention d'une limite supérieure concernant le temps nécessaire à l'apparition de 50% de mortalité lorsqu'étudié en fonction de la concentration en particules disponibles, propose tout comme dans le cas de l'effet du temps de contact l'existence d'une période de temps minimale nécessaire à l'apparition de l'effet toxique chez 50% de la population. Théoriquement, cette période de temps minimal devrait être analogue à celle qui fut déterminée lors de l'étude de l'effet du temps de contact; puisque dans les deux cas la mortalité survient suite à une saturation. En comparant pour chacune des espèces, les périodes de temps

minimales correspondantes, on remarque qu'aux températures de 12 et 18 degrés Celsius la similitude est clairement démontrée. L'existence de la non-similitude de cette "période minimale" observée à basses températures (4 et 8 degré Celsius) s'expliquerait peut-être en partie par le fait qu'expérimentalement lors de l'étude de l'effet de la concentration, la quantité de particules toxiques nécessaire pour occasionner la saturation physique et/ou physiologique de la larve n'aurait pas été atteinte. L'évaluation successive de cette période de temps minimale, à partir des études des effets de la variation de la concentration et du temps de contact sur la cinétique, confirme l'existence d'un temps moyen minimal nécessaire à l'activation et l'action d'une quantité de toxine produisant l'élimination de 50% de la population.

De façon générale, l'effet de la température sur la cinétique, se traduit par la diminution de la période de temps nécessaire à l'élimination de 50% de la population. La température est l'un des facteurs abiotiques influençant le plus l'environnement, cette dernière agit entre autre plus précisément sur le comportement de filtration (Lacey et Mulla, 1976; Kurtak, 1978), la vitesse du transit intestinal (Elsen et Hebrad, 1979) et les vitesses de dissolution à pH alcalin et des réactions enzymatiques (Hoar, 1983). La mortalité observée est par conséquent la résultante des influences de chacun de ces facteurs,

eux-mêmes influencés par la température. Ainsi, vue la complexité du phénomène, il est préférable d'analyser l'effet global de la température à partir de la "période de temps minimale". La détermination de cette période s'appuie sur le fait d'une saturation des divers facteurs affectant l'effet toxique.

En assimilant l'inverse du temps minimum nécessaire à l'apparition de 50% de mortalité à une vitesse d'exécution ($1/\text{temps}$: proportion de la vitesse), il serait possible d'avoir recours à la valeur du Q_{10} pour estimer l'influence de la température. Cette valeur descriptive fréquemment utilisée en biologie, est l'augmentation de la vitesse de réaction occasionnée par un accroissement de 10 degrés Celsius de la température: telle que

$$Q_{10} = K(t+10) / K_t$$

où K_t est la vitesse constante à la température "t" et $K(t+10)$ la vitesse constante, à 10 degrés Celsius plus élevés. Cette valeur est facilement estimable à partir des résultats provenant de n'importe quelle température, par la formule générale:

$$Q_{10} = (K_1 / K_2)^{10 / (t_1 - t_2)}$$

ou

$$\text{Log } Q_{10} = 10 (\text{Log } K_1 - \text{Log } K_2) / (t_1 - t_2)$$

ESPÈCES	TEMPÉRATURES	Q10 (H150%)
<u>Prosimulium</u> gr. <u>mixtum</u>	4° à 8° Celsius	74,19
	8° à 12° Celsius	2,34
<u>Simulium</u> <u>decorum</u>	4° à 8° Celsius	38,28
	8° à 12° Celsius	450,86
	12° à 18° Celsius	1,07

H150% : Heure de lecture où on observe 50% de mortalité

Tableau no 10 Valeurs des différents Q10, calculées à partir des "temps minima" obtenus lors de l'étude des variations du temps de contact et de la concentration.

où K1 et K2 sont respectivement les vitesses constantes à t1 et t2. Les valeurs des différents Q10 obtenus sont exposées au tableau no 10. On remarque encore une fois la similitude entre les Q10 estimés à partir des "temps minima" calculés lors de l'étude des variations du temps de contact ou de la concentration. Etant bien conscient que les valeurs de Q10 obtenues sont calculées à partir d'un artifice qui permet l'estimation de la vitesse moyenne associée à l'obtention de 50% d'élimination, les valeurs de ces Q10 ne seront utilisées que de façon absolue, en vue d'une comparaison qui permettra de déterminer les zones particulières où l'influence de la température se fait la plus ressentir. En comparant pour une espèce, les valeurs du Q10 associées aux différents écarts de température, on remarque que l'influence de cette dernière n'est pas uniforme. Chez Prosimulium gr. mixtum, la valeur la plus élevée du Q10 est observée lors du passage de la température de 4 à 8 degrés Celsius, comparativement à une variation de 8 à 12 degrés Celsius pour Simulium decorum. Ces valeurs très élevées du Q10 proviennent certainement du fait que pour ces écarts de température, la vitesse de modification du profil cinétique n'est pas constante; les écarts de température étant probablement trop grands. On peut cependant retenir que Prosimulium gr. mixtum est principalement affectée par une augmentation de la température entre 4 et 8 degrés Celsius (il existe certainement un effet pour le passage de la température de 0 à 4 degrés Celsius) et que Simulium decorum l'est principalement pour une augmentation de 8 à 12 degrés Celsius, un effet étant tout de même

apparent de 4 à 8 degrés Celsius. Ce phénomène pourrait être expliqué par le fait que les espèces d'hiver (dont Prosimulium gr. mixtum) croissant le plus souvent dans une eau dont la température avoisine généralement 0 degré Celsius, doivent posséder une grande résistance au froid et pouvoir reprendre une activité normale dès que l'eau se réchauffe le moins. Pour leur part, les espèces d'été, comprenant Simulium decorum, peuvent se retrouver dans des eaux de 0 à 20 degrés Celsius; cependant des températures de 7 à 13 degrés Celsius sont considérées comme optimales (Back, 1977). Chacune de ces espèces possédant son optimum de croissance, il serait donc conséquent de présumer que l'effet maximal de la température, coïnciderait avec l'optimum métabolique. Lacey et Federici (1979), Weiser et Vaňková (1979) ainsi que Molloy et al. (1981) rapportèrent également qu'un accroissement de la température provoque une augmentation de la rapidité d'apparition d'un pourcentage de mortalité déterminé; sans jamais cependant élaborer sur l'existence d'une zone particulière où l'influence de la température est plus marquée chez l'espèce étudiée.

L'effet de la température sur la cinétique d'apparition de la mortalité étant la résultante de chacun de ses effets sur des paramètres physiques, physiologiques et comportementaux liés à l'effet toxique, il devient très difficile d'interpréter, dans notre cas, l'influence de la température autrement que par un phénomène global. En se reportant à la schématisation très sommaire du phénomène de toxicité exposé

précédemment, l'influence globale de la température se résumerait à une accélération des phénomènes permettant d'atteindre le "seuil de toxicité". A ce stade, aucun indice ne permet de déterminer si le "seuil de toxicité" varie selon la température; la quantité minimale de produit toxique nécessaire pour occasionner l'effet larvicide n'ayant pas encore été déterminée. Cependant, il serait logique de prétendre qu'étant donné l'accroissement de l'activité enzymatique en fonction d'une augmentation de la température à l'intérieur de la zone limite, une plus grande quantité de toxine serait libérée par unité de temps; engendrant ainsi une intensification de l'effet toxique. La quantité minimale de particules indispensable à la libération de la quantité de toxine nécessaire à l'apparition de l'effet toxique, est susceptible de diminuer étant donné que la quantité de toxine "extraite" d'une seule particule, serait plus grande. Par conséquent, une augmentation de la température engendre une diminution des "temps de contact et concentrations minimaux", de même que des "temps de contact et concentrations maximaux et optimaux".

Un autre paramètre environnemental peut influencer l'effet toxique des cristaux de Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis est le pH du milieu. Il fut démontré qu'à concentrations et températures différentes, une acidification du milieu augmente la période de temps nécessaire à l'apparition de 50% de mortalité chez la population

larvaire de Simulium decorum, tandis qu'une alcalinisation du milieu produit le phénomène inverse (tableau #11). Tout comme dans le cas de l'étude de l'influence de la température, le phénomène observé est en fait la résultante des différents effets sur les activités physiologiques de la larve ainsi que sur la stabilité du cristal. A ce jour, très peu de renseignements concernant l'influence possible du pH sur les activités biologiques et comportementales des larves de mouche noire sont disponibles. Cependant, il fut démontré que la structure du "cristal" serait plus stable lorsque soumise à un pH acide, l'alcalinisation du milieu entraînant un affaiblissement de cette même structure (Sinègre, 1981). L'ingestion d'un cristal déjà altéré faciliterait "l'activation" de l'endotoxine au niveau du système digestif, diminuerait le temps nécessaire à "l'activation", augmentant ainsi la quantité de toxine libérée pour ainsi engendrer une intensification de l'effet toxique. Une observation malheureusement non quantifiée provenant d'une expérience fortuite utilisant comme produit insecticide, 400 mg de TEKNAR dialysé dans un tampon de carbonate de sodium (Na_2CO_3 10 mM) à pH 11 pendant 6 heures et 24 heures, démontre que l'activité larvicide est grandement accrue lorsque le produit est soumis à un pH alcalin pendant quelques heures. Une exposition trop prolongée provoque une perte d'activité toxique. Conséquemment, l'hypothèse d'une action directe sur la structure du "cristal" semble renforcée.

Heure à laquelle apparaît 50 % de mortalité

Température	ph	m	HL50%
4 C	4,5	0,97174	178,121
	5,0	1,13590	79,470
	6,0	1,06500	87,368
	7,0	1,41690	39,560
	8,0	1,07900	32,590
	9,0	1,22750	16,24
12 C	4,5	1,16090	6,07
	7,0	1,05197	3,41
	9,0	0,91200	1,23

. m: pente

. HL50% : heure létale 50 %

Tableau no 11 Influence du pH du milieu sur la période au terme de laquelle il s'est produit 50% de mortalité (HL50%) chez les larves de Simulium decorum soumises à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR à une température de 4 et 12 degrés Celsius.

En assimilant le temps nécessaire à l'apparition de 50% de mortalité obtenue à un pH neutre à un "temps standard" servant de point de comparaison, on remarque qu'une alcalinisation du milieu (pH 9) provoque une diminution de 64% de cette période à 12 degrés Celsius et de 59% à 4 degrés Celsius; une acidification (pH 4,5) provoquant une augmentation de 78% à 12 degrés Celsius, comparativement à 350% à 4 degrés Celsius. Une variation de la température ne semble pas affecter l'effet d'une alcalinisation du milieu sur la cinétique d'apparition de la mortalité, les pourcentages de réduction étant semblables. Cependant, l'effet d'une acidification du milieu semble par contre plus considérable à basse température.

Le pH des eaux naturelles est généralement compris entre 6,6 et 7,6, cependant en région à substrat acide, dans des eaux issues de zones tourbeuses ou soumises à une acidification naturelle ou artificielle (fonte des neiges, déversements industriels) on enregistre des pH pouvant être inférieurs à 5,0. Inversement, les rivières serpentant les régions à fortes teneurs en carbonate (teneurs naturelles ou artificielles), ou des rivières dont les affluents seraient influencés par la proximité d'étangs hautement productifs, peuvent notamment atteindre un pH de 9 , selon l'importance du bassin versant et de l'activité photosynthétique des végétaux aquatiques influencés par la teneur en CO₂ dissout (Nisbet et Verneaux, 1970; Mc Neely, Neimamis et Dwyer, 1979). Si certains de ces milieux abritent des populations de mouches noires, l'efficacité

larvicide de produits insecticides à base de "cristaux" de Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis risque fort bien d'être modifiée. Cependant, certains auteurs (Sinègre et al., 1980; Ignoffo et al., 1981) prétendent que le pH caractéristique des habitats de la mouche noire n'affecte pas l'activité des "cristaux".

Suite à cette analyse cinétique de l'apparition de la mortalité, nous disposons maintenant d'une vue d'ensemble sommaire du phénomène de toxicité ainsi que des différents paramètres l'influençant et le définissant. Cette représentation de ce phénomène (figure #27) nous semble celle qui pour le moment rend le mieux compte de l'ensemble des phénomènes observés. A ce point de l'étude nous pouvons poser quelques hypothèses concernant le phénomène de toxicité du Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis envers les larves de mouche noire.

1. l'effet larvicide découle de l'atteinte du seuil limite de tolérance aux effets toxiques; ce seuil relevant de l'individu (espèce, état physiologique ...).
2. l'effet toxique dépend directement de la quantité de toxine libérée.

3. la quantité de toxine libérée est liée au nombre de particules ingérées soumises aux conditions internes et externes de la larve (pH, enzymes ...), elles-même relevant soit de l'individu (espèce, état physiologique ...), soit du milieu (pH de l'eau...).
4. la quantité de particules ingérées dépend pour sa part de la probabilité de rencontre "larve-particules" régie par la combinaison des facteurs; concentration et temps de contact; de même que l'activité de capture, elle-même influencée par les conditions abiotiques du milieu (Kurtak, 1978; Lacey et Fédérici, 1979), de même que par les conditions internes à l'individu (espèce, état physiologique ...)(Lacey et Fédérici, 1979).

Nous remarquons donc qu'il existe encore une multitude de paramètres dont les diverses interactions ne sont pas encore bien qualifiées. Il ne faut donc pas perdre de vue que nous sommes en présence d'une vision encore sommaire d'un phénomène des plus complexe.

V.2 ANALYSE DU POTENTIEL LARVICIDE

Lors de l'étude sur la cinétique d'apparition de la mortalité, il fut établi que la concentration et le temps de contact agissent de paire

sur la probabilité d'ingestion de la "quantité minimale toxique". Cependant, dû à la structure du modèle expérimental prévue principalement pour une étude cinétique, il est difficile à partir de nos résultats, de déterminer exactement l'influence de l'action combinée de ces deux paramètres. Toutefois, la combinaison des différentes observations exécutées sur l'influence de chacun des paramètres, permet tout de même d'entrevoir un phénomène global.

Il fut donc démontré qu'un accroissement de la concentration ou du temps de contact, provoque une augmentation de la mortalité finale (c'est-à-dire le taux de mortalité déterminé lors de la première lecture), ce jusqu'à un plateau. Ceci confirmant ainsi l'existence d'une concentration et d'un temps de contact optimaux. L'augmentation du taux de mortalité occasionnée par un accroissement du temps de contact signifie que la quantité globale de cristaux offerts (à partir de laquelle est puisée la quantité minimale nécessaire pour produire un effet toxique) requise pour l'élimination d'une certaine portion de la population, diminue à mesure que le temps de contact augmente. Une prolongation du temps de contact occasionne donc une diminution de la dose à utiliser (DL%) afin d'éliminer un même pourcentage de la population. Un phénomène analogue se produit lors de l'augmentation de la concentration; le temps de contact nécessaire à l'élimination d'une certaine partie de la population (TCL%) raccourcissant à mesure que la concentration en particules augmente. Des résultats similaires furent

exposés par Frommer et al. (1980). Ils démontrèrent qu'un accroissement du temps de contact de 30 à 60 minutes occasionne une diminution de la DL50% de 0,81 à 0,32 ppm chez Simulium (Psilozia) vittatum à 22 degrés Celsius. N'ayant déterminé les DL50% que pour un seul temps de contact (1800 sec.), il nous est impossible de quantifier une variation semblable.

Pour sa part, un accroissement de la température provoque, pour une même période de lecture, une augmentation du taux de mortalité finale; engendrant ainsi une diminution de la concentration (DL%) et du temps de contact (TCL%) nécessaires à l'élimination d'une certaine proportion de la population. Molloy et al. (1981), dans leur étude sur la susceptibilité de Simulium (Psilozia) vittatum aux B.t.i. (Biochem), confirment également l'influence significative de la température sur le taux de mortalité. Ils démontrèrent que la mortalité observée à 20 degrés Celsius est le double de celle observée à 10 degrés Celsius. Pour notre part, nous observions que chez Simulium decorum soumise au B.t.i. (Teknar) la mortalité observée à 18 degrés Celsius (98%) est près de 2,5 fois plus élevée que celle observée à 8 degrés Celsius (40%). De façon similaire à celle utilisée lors de l'étude cinétique, nous pouvons quantifier l'effet d'une variation de la température sur la concentration et le temps de contact nécessaires à l'élimination d'une certaine partie de la population. A la différence que les vitesses (V1 et V2) sont maintenant définies comme le pourcentage de mortalité

occasionné par unité de temps de contact ou de concentration (exemple: à 4 degrés Celsius, 50% de la population est éliminée par un traitement de 91 minutes à une concentration de 400 mg/l; $V = 50/91 = 0,549$). Cette notion de "vitesse" est en fait l'estimé d'une "vitesse moyenne relative" qui représente la moyenne des "vitesses réelles" déterminées pour chacun des segments de la courbe dépeignant la cinétique d'intoxication. Comme observé antérieurement, l'espèce d'été (Simulium decorum) semble beaucoup plus sensible aux variations de température avoisinant 12 C ($Q_{10} = 0,164$ pour le passage de 4 à 8 degrés Celsius, $Q_{10} = 27,21$ pour le passage de 8 à 12 degrés Celsius, ce pour une augmentation de la DL50%; $Q_{10} = 1,733$ pour le passage de 4 à 8 degrés Celsius, $Q_{10} = 71,35$ pour le passage de 8 à 12 degrés Celsius pour une variation de la TCL50%). Prosimulium gr. mixtum pour sa part, en plus d'être sensible à une augmentation de la température de 8 à 12 degrés Celsius ($Q_{10} = 25,04$ pour une variation de la DL50%; $Q_{10} = 13,32$ pour une variation du TCL50%), est aussi très sensible à une variation de la température au environ de 4 degrés Celsius ($Q_{10} = 12,21$ pour une variation de la DL50% de 4 à 8 C; $Q_{10} = 9,98$ pour une variation de la TCL50% de 4 à 8 degrés Celsius). Il est important de rappeler à ce stade que ces valeurs de Q_{10} n'ont qu'une valeur comparative. De plus, étant donné le modèle expérimental fixant à 24 heures la dernière lecture, il est fort possible qu'à basse température, les DL50% et TCL50% soient surestimées; la mortalité observée après 24 heures n'étant peut-être pas tout-à-fait la vraie mortalité "finale", cette dernière pouvant être probablement, dans certains cas, légèrement plus élevée que

celle que nous avons observée après 24 heures suivant le début de l'intoxication (figure #16). D'où, peut résulter une sous estimation du potentiel larvicide du B.t.i. (Teknar) à basse température.

Un autre paramètre environnemental pouvant influencer l'effet toxique des cristaux de Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis est le pH du milieu. Il fut démontré qu'à températures et concentrations différentes, une acidification du milieu provoque une diminution du taux de mortalité observé à une même période suivant l'application, chez une population larvaire de Simulium decorum, tandis qu'une alcalinisation du milieu produit le phénomène inverse (tableau #12). Etant donné la forte corrélation (0,94 à 0,99) existant entre le pourcentage de mortalité observée et le pH du milieu, ainsi que le fait que les pentes de régression (mortalité vs pH du milieu) sont semblables pour une même température (12 degrés Celsius) aux deux concentrations (pente = 2,639 pour 400 mg/l; pente = 2,179 pour 4 mg/l); en exposant les résultats obtenus sur une échelle probit (probabilité) pour la mortalité et une échelle logarithmique pour la concentration, il est possible d'estimer la variation de la DL50% en fonction de la variation du pH du milieu (figure #29). En utilisant toujours le pH 7 comme pH de référence, on remarque qu'une acidification du milieu (pH= 4,5) provoque une augmentation de près de deux fois la DL50% pour cette espèce à une température de 12 C (pH 7 = DL50% de 6 mg/l; pH 4,5 =

Température	Concentration	ph	Mortalité (%)
4° C	400 mg/L (TEKNAR [®])	4,5	19,32
		5,0	27,40
		6,0	25,95
		7,0	36,35
		8,0	44,10
		9,0	57,53
12° C	4 mg/L (TEKNAR [®])	4,5	41,76
		7,0	47,17
		9,0	51,57
12° C	400 mg/L (TEKNAR [®])	4,5	72,20
		7,0	80,30
		9,0	89,60

Tableau no 12 Influence du pH sur le pourcentage de mortalité chez les larves de Simulium decorum soumises à une concentration de 400 mg/L de TEKNAR[®] à une température de 4 et 12 degrés Celcius et à une concentration de 4 mg/L de TEKNAR à une température de 12 degrés Celsius.

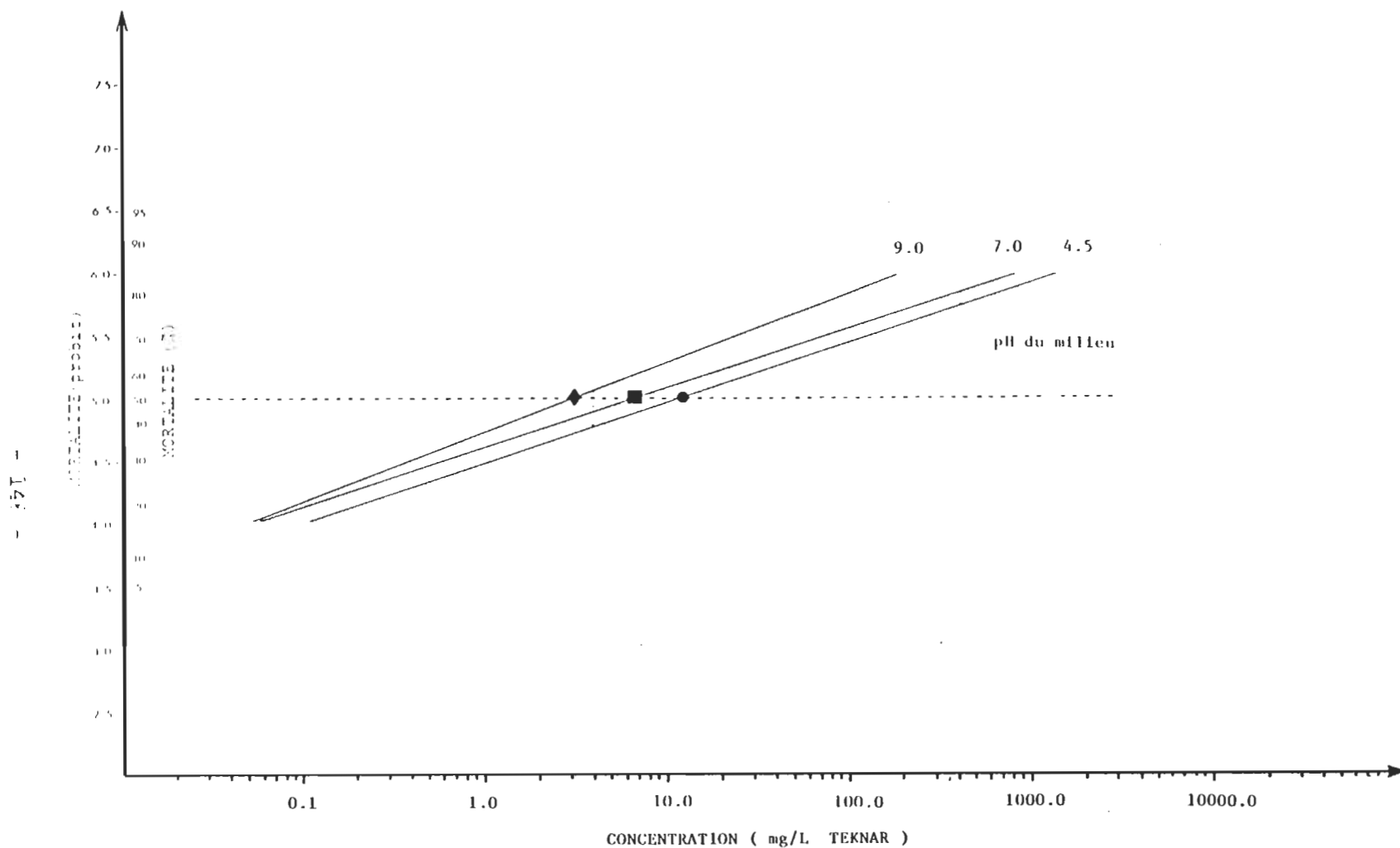


Figure no 29 Influence d'une variation du pH du milieu sur la relation existant entre le pourcentage de mortalité et le logarithme de la concentration (analyse Probit) chez les larves de *Simulium decorum* soumises à un temps de contact de 1800 secondes, à une température de 12 degrés Celsius.

DL50% de 11 mg/l). De même une alcalinisation du milieu à pH 11, diminue de près de moitié cette DL50% (pH 11 = DL50% de 2 mg/l). On ne peut malheureusement pas encore, vue le manque de données, quantifier l'effet combiné de la température et du pH. Cependant, les quelques renseignements obtenus nous permettent d'avoir une idée de cette influence combinée. En comparant les droites de régression (mortalité vs pH du milieu) associées à chacune de ces températures, on remarque que la pente à 4 degrés Celsius (7,456) est plus prononcée que celles déterminées à 12 degrés Celsius (2,179 et 2,456). Ce phénomène présument que l'effet du pH sur l'activité larvicide des cristaux de B.t.i. serait plus prononcé à basses températures. On remarque donc pour cette espèce, une tendance à la diminution de la DL50% à mesure qu'il se produit une alcalinisation du milieu, et ce pour toutes températures utilisées. Comme nous l'avons présumé lors de la discussion sur l'effet du pH sur la cinétique d'apparition de la mortalité, le phénomène observé est en fait la sommation des différentes influences sur les activités physiques et physiologiques de la larve de mouche noire, ainsi que sur la stabilité du cristal de B.t.i.. Comme exposé antérieurement, aucune donnée sur le comportement physique et physiologique des larves de mouche noire à différents pH du milieu n'est présentement disponible, ce qui nous restreint à ne discuter que du caractère de stabilité du cristal du B.t.i.. Se basant sur les résultats obtenus lors de différentes expériences faisant varier le pH du milieu et de la solution insecticide, ainsi que sur les indices concernant la stabilité de la

structure du cristal fournis par Sinègre (1980), nous pourrions proposer une simple procédure pour accroître l'efficacité de cette formulation insecticide. Avec l'ajout d'une certaine quantité de produit basique (par exemple du NaOH) à la solution insecticide quelque temps avant l'utilisation, l'alcalinité du support liquide contenant les cristaux déclencherait une déstabilisation de la structure "cristalline" qui se poursuivrait plus facilement à l'intérieur du tractus digestif de la larve. Ceci faciliterait ainsi la "libération" des éléments toxiques. Cependant, avant l'utilisation d'un tel procédé, il resterait à exécuter quelques vérifications en ce qui concerne la sélectivité de ce produit "pré-actif" et son degré de stabilité lors du transport en milieu lotique.

En ce qui concerne l'utilisation de la DL50% et de la TCL50% associées chacune à une pente (droite de régression entre la mortalité exprimée sous forme probit et la concentration ou le temps de contact selon le cas, exprimé sous forme logarithmique) pour caractériser une espèce dans des conditions environnementales définies, les résultats des analyses à cet effet démontrent une certaine variation de cette pente au diverses températures, pour les deux espèces étudiées (tableaux #6, 7). Théoriquement, une faible pente signifierait que les temps de contact ou les concentrations associées à l'élimination d'une certaine proportion de la population (DL% et TCL%) sont bien étalés de part et d'autre de la DL50% ou la TCL50% selon le cas. De même, une pente élevée

signifierait que ces points sont plus rapprochés les uns des autres, sous-tendant ainsi une plus grande "susceptibilité" de cette population. Aucune explication élaborée n'a pu être retenue, si ce n'est que cette pente pourrait bien être aussi un indice de l'activité physique et physiologique de cette population de larves de mouche noire soumise à ces conditions environnementales. Cependant, les résultats obtenus ne démontrent que partiellement ces hypothèses. Seuls les résultats de l'étude de l'effet du temps de contact chez Prosimulium gr. mixtum et de l'effet de la concentration chez Simulium decorum appuient ces dernières. En effet, on note une augmentation de la pente à mesure que la température augmente. Une augmentation significative (0,05) de ces pentes est enregistrée entre toutes les températures chez Simulium decorum (pente de 0,563 à 4 C; pente de 0,714 à 8 C; pente de 0,829 à 12 degrés Celsius). Chez Prosimulium gr, mixtum l'augmentation significative ne se retrouve qu'entre 4 et 8 degrés Celsius (pente de 0,768 à 4 C; pente de 1,327 à 8 degrés Celsius et une pente de 1,101 à 12 degrés Celsius non significativement différente de celle à 8 degrés Celsius). La comparaison entre espèces à l'aide de ces résultats est non recommandée à ce point-ci, étant donné que les pentes de chacune de ces espèces proviennent de l'étude de paramètres différents. Cependant, en comparant l'allure de ces résultats avec ceux obtenus lors de l'étude de l'effet de la température sur l'activité larvicide, nous remarquons une certaine analogie entre la progression de ces pentes et les zones d'influences de la température chez chacune de ces espèces. Les pentes varient principalement entre 4 degrés Celsius et 8 degrés Celsius chez

l'espèce d'hiver (Prosimulium gr. mixtum) et augmentent régulièrement à chacune des températures chez l'espèce d'été (Simulium decorum). L'intégration de ces renseignements dans l'interprétation de résultats visant une comparaison entre espèces, revet une grande importance lors de l'évaluation de la "susceptibilité" de ces dernières au Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis (TEKNAR). Par exemple: en utilisant certains résultats obtenus lors de l'étude de l'effet de la variation de la concentration sur l'effet larvicide (temps de contact de 30 minutes; heure de lecture: 12 heures), on remarque qu' en comparant les deux espèces à une même température (12 degrés Celsius), l'espèce d'hiver (Prosimulium gr. mixtum)(DL50% = 3,28 mg/L) est plus "susceptible" que l'espèce d'été (Simulium decorum)(DL50% = 11,78 mg/L)(figure #30). Cependant, il en est tout autrement lorsque l'on effectue cette comparaison en tenant compte des températures optimales métaboliques de chacune de ces espèces. En associant 4 degrés Celsius à la température qui se rapproche le plus de la température optimale métabolique de Prosimulium gr. mixtum et 12 degrés Celsius à celle de Simulium decorum, on remarque que cette dernière (DL50% = 11,78 mg/L) serait plus "susceptible" que l'autre (DL50% = 355,9 mg/L). De plus, en prenant la notion de "susceptibilité" dans un sens plus large, on pourrait en plus de dire que l'espèce Simulium decorum est plus "susceptible" que Prosimulium gr. mixtum à températures optimales comparées, supposer que cette dernière possède cependant une "susceptibilité relative" plus grande que sa consœur; la pente associée à la DL50% (P. m., 4 degrés Celsius, $m = 2.503$) étant plus élevée (S.

d., 12 degrés Celsius, $m = 0,772$). Une faible variation de la concentration en B.t.i. (TEKNAR) affectant plus (à température optimale comparée) Prosimulium gr. mixtum que Simulium decorum. Il serait donc très important, dans un proche avenir, de bien définir la notion de "susceptibilité".

V.3 CONSIDÉRATIONS SUR LA VARIABILITÉ DES RÉSULTATS

L'explication de la variation expérimentale entre les résultats ainsi qu'entre les divers réplicats tout au long de cette étude, réside probablement dans le fait qu'il ne fut nullement tenu compte des paramètres suivants: le stade larvaire (âge et grosseur de la larve), de la précision au niveau de l'identification de l'espèce d'hiver (Prosimulium gr. mixtum étant en fait un ensemble d'espèces voisines distinguables, quelques fois, que par analyses chromosomiques ou enzymatiques; c'est la raison pour laquelle nous avons préféré utiliser l'appellation "espèce d'été" et "espèce d'hiver") et de la nutrition des larves cobayes (aucun élément nutritif n'ayant été ajouté avant, pendant ou après le traitement). Molloy et al. (1981) rapportèrent une activité toxique significativement plus élevée chez les larves de 2^{ième} stade (94,4%) que chez des larves de 7^{ième} stade (45,3%) soumises à une concentration de 0,3 ppm d'une formulation de B.t.i.. Frommer et al. (1980), ainsi que Molloy et al. (1981) démontrèrent comme nous, qu'il existe une différence entre l'activité larvicide chez les diverses espèces de larves de mouche noire puisque ces dernières

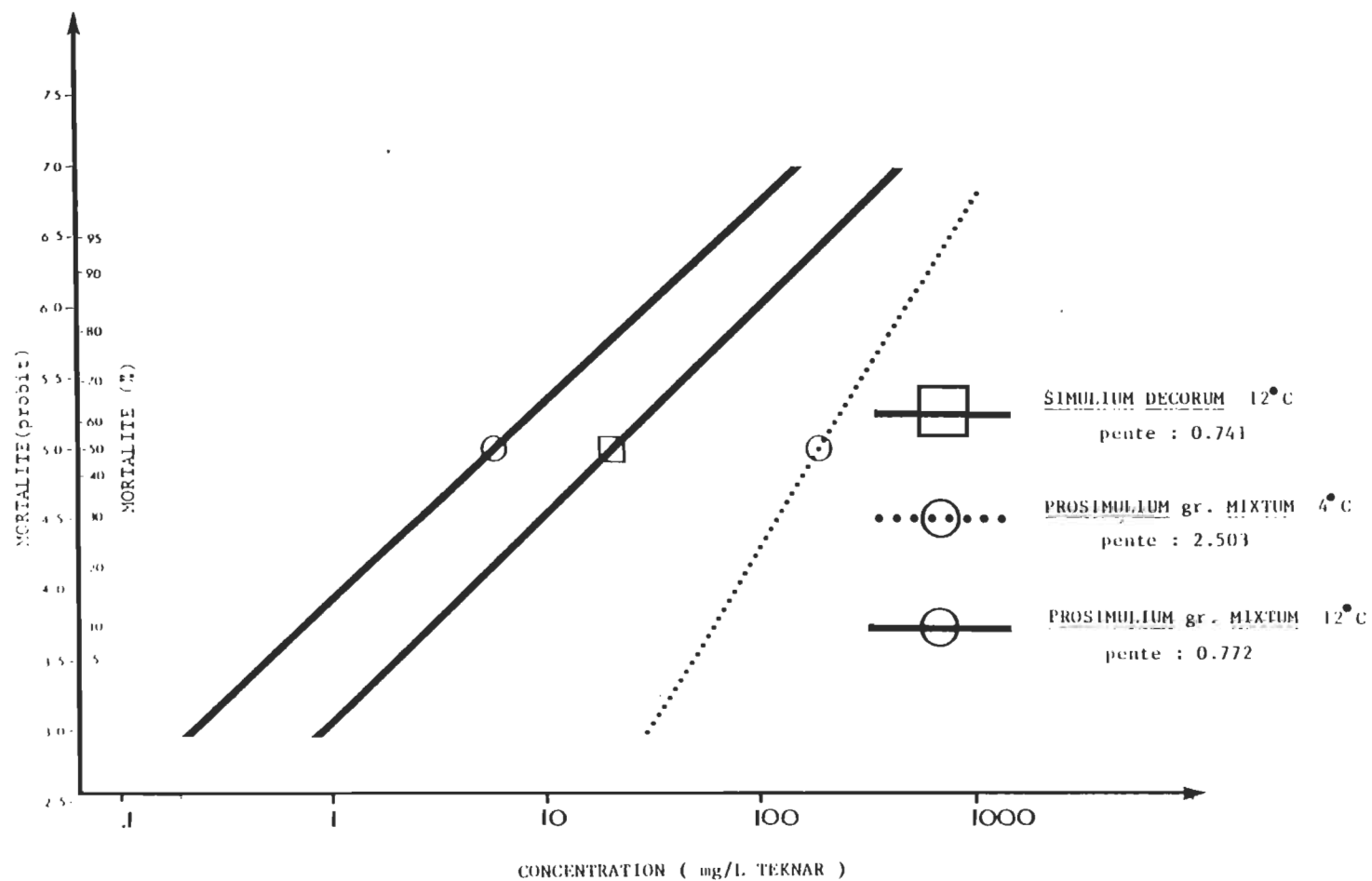


Figure no 30 Suceptibilité comparée de *Simulium decorum* et *Prosimulium gr. mixtum*, suite à un traitement de 1800 secondes à une concentration de 400 mg/L de TEKNA, observée après une période de 12 heures à une température de 4 et 12 degrés Celsius.

réagissent probablement différemment face à un même matériel (Elouard et Elsen, 1977; Elsen et al., 1978; Kurtak, 1978; Elsen et Hebrard, 1979). De plus, ces derniers auteurs démontrèrent que la présence de particules alimentaires augmente la vitesse du transit intestinal, ce qui pourrait dans notre cas, modifier l'efficacité de la formulation. Etant donné que le temps de passage du cristal dans le tractus digestif est déterminant pour la "libération" de la toxine, donc déterminant pour l'efficacité larvicide. Cependant le fait de n'avoir aucunement nourri les larves lors des expérimentations, induit le même biais au niveau de toutes les analyses et résultats. Ce qui ne perturbe en rien la "comparatibilité" des résultats. Il serait donc important lors de prochaines expérimentations, d'apporter quelques modifications au sein du protocole expérimental au niveau de l'identification précise des stades et espèces utilisés, de même qu'au niveau de l'apport de matériels nutritifs (dosage de la nutrition durant toute l'expérience). Notons cependant que nous avons voulu à dessein simplifier les conditions expérimentales pour bien mettre en évidence l'influence des divers paramètres pris isolément. Nous sommes toutefois bien conscient qu'en milieu naturel l'effet global de l'insecticide résulte de l'influence combinée de facteurs complexes. Il reste donc encore plusieurs autres facteurs pouvant et devant éventuellement être analysés avec précision, tel:

- * l'effet du stade larvaire.
- * l'effet de l'espèce.
- * l'effet de la présence de particules alimentaires.
- * l'effet de la présence de particules en suspension.
- * l'effet de la vitesse du courant et de la présence de turbulences.
- * l'influence de la photopériode et du cycle naturel d'alimentation.
- * ..etc

V.4 ESSAI DE MODÉLISATION DE L'EFFET LARVICIDE

En regardant les diverses relations existant entre la mortalité observée et les différents paramètres étudiés (temps de contact, concentration, température et pH, ainsi que le temps écoulé et le groupe d'espèce) il nous est possible de définir sommairement l'expression

générale de ces relations.

Ayant établi que la concentration et le temps de contact agissent de pair sur la probabilité d'ingestion de la quantité minimale de toxine, et qu'à la limite, pour un temps de contact très court (près du temps de contact minimum) y correspondrait une concentration très élevée, ainsi qu'à un temps de contact très long y correspondrait une concentration très faible (près de la concentration minimale), et vice versa; la relation entre le temps de contact (TC) et la concentration déterminée pour éliminer une certaine proportion de la population (DL%) serait donc:

$$DL\% = a - b \log(TC)$$

De même, plus la période écoulée entre l'application et le temps où le résultat est désiré (heure de lecture: HL) est grande, plus la dose associée à l'élimination d'une certaine portion de la population est petite (DL%). Il existe bien entendu une période minimale nécessaire à la libération de la "quantité minimale toxique", ainsi qu'une période maximale au delà de laquelle il ne se produit plus de variations de la dose, donc:

$$DL\% = a - b \log(HL)$$

De même, il fut déterminé que l'influence de la température (T) se représentait bien sous la forme:

$$DL\% = a - b (e^{**} kT)$$

plus la température est élevée, plus la concentration nécessaire est faible; et ce bien entendu entre les températures limites associées à ces espèces.

De même il fut déterminé que plus le pH est acide, plus la concentration doit augmenter, et que ce phénomène est amplifié par une baisse de la température. Nous pourrions donc représenter cette relation par:

$$DL\% = a - b (pH) + b_2 (pH * T)$$

A ce stade, en compilant ces diverses équations, nous pourrions représenter, pour une espèce particulière, la relation générale déterminant dans ce cas la concentration à utiliser par l'équation générale suivante:

$$DL\% = A - b_1 \log(TC) - b_2 \log(HL) - b_3 (e^{**}kT) - b_4 (pH) + b_5 (pH*T)$$

Il est bien entendu qu'il existe certainement plusieurs autres

représentations possibles de ces relations, cependant c'est cette dernière qui fut retenue comme exemple de modélisation.

Conséquemment à ces analyses mathématiques, ces relations peuvent se représenter sous la forme d'un graphique multidimensionnel. Cependant, il serait plus avisé de commencer par une représentation bidimensionnelle corrélant les paramètres concentration et temps de contact à la mortalité (figure #31). La quantité de particules disponibles par volume, à partir de laquelle sera prélevée la "quantité minimale de toxine", est donc directement dépendante de la concentration en particules et du temps de contact utilisés (selon le débit calculé). En effet, si nous disposons d'une quantité fixe d'insecticide, nous pouvons le déverser très rapidement donc à concentration très élevée, ou bien, le déverser très lentement à concentration très faible. C'est donc dire, beaucoup plus de particules disponibles en peu de temps, ou moins de particules disponibles sur une période de temps plus longue. En utilisant une représentation logarithmique pour la concentration et le temps de contact, nous obtenons une droite qui représente cette quantité fixe de produit, c'est-à-dire une "isodose". Par exemple: traiter le même cours d'eau possédant un débit de 1 litre par seconde à une concentration de 1,67 mg/L pendant 1 minute, 0,167 mg/L pendant 10 minutes ou 0,0277 mg/L pendant 60 minutes prend la même quantité totale d'insecticide (100 mg)(figure #32). Par la suite, en disposant sur ce graphique les mortalités obtenues aux diverses combinaisons de temps de

contact et de concentration, pour une même période de lecture et autres paramètres environnementaux fixes; il serait possible en reliant tous les points représentant le même pourcentage de mortalité, de tracer des lignes dites d'isomortalité. Ces lignes d'isomortalité déterminent en fait des zones d'isoprobabilité d'intoxication où l'on retrouve toutes les combinaisons possibles pouvant mener à l'élimination d'une partie de la population (par exemple entre 80 et 90% de la population; ou une probabilité de 0,8 à 0,9 qu'une larve soit affectée létalement). Donc, en considérant l'endroit où une ligne d'isomortalité croise la ligne d'isodose la plus faible (l'équivalent du "sommet inférieur" de la courbe) nous sommes en présence d'une zone étroite, où les combinaisons concentration et temps de contact sont optimales, c'est-à-dire qu'elles offrent ce pourcentage de réduction en utilisant le temps de contact et la concentration les moins élevés. En joignant tous ces "sommets", nous obtenons une zone où les combinaisons sont optimales pour tout traitement en fonction du degré d'élimination désiré. Par la suite, il est donc permis de rendre plus complexe ce type de représentation en y incorporant l'influence de la température, du pH ... etc. Ces influences provoquent une translation dans l'espace des lignes d'isomortalité, donc entraînent du même coup la zone optimale d'efficacité larvicide.

En ajoutant à cette représentation graphique, une échelle comparative au niveau de la concentration, tenant compte de la force relative de l'insecticide (exprimée en I.T.U. A.a. : International

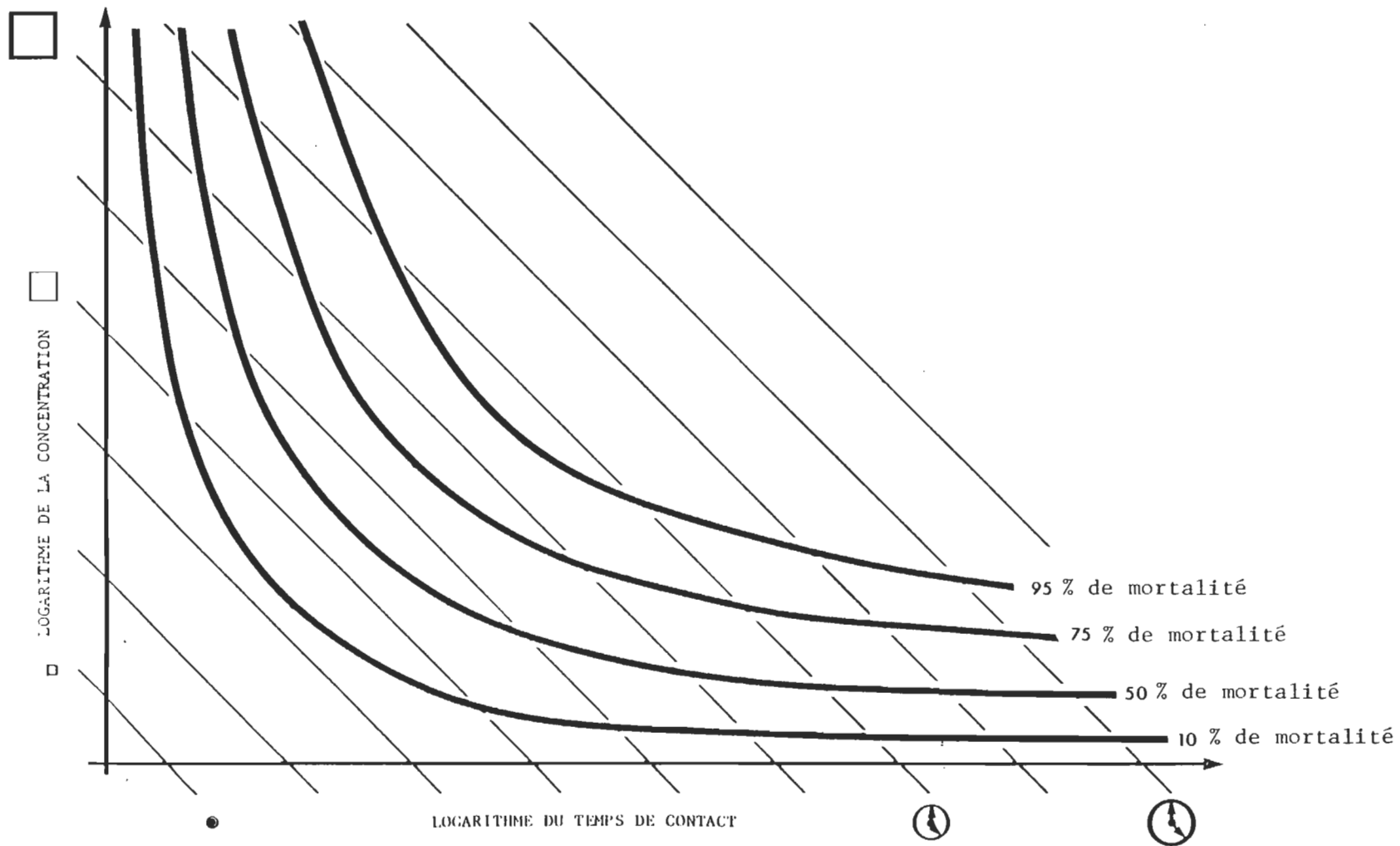


Figure no 31 Représentation bidimensionnelle corrélant les paramètres concentration et temps de contact à la mortalité.

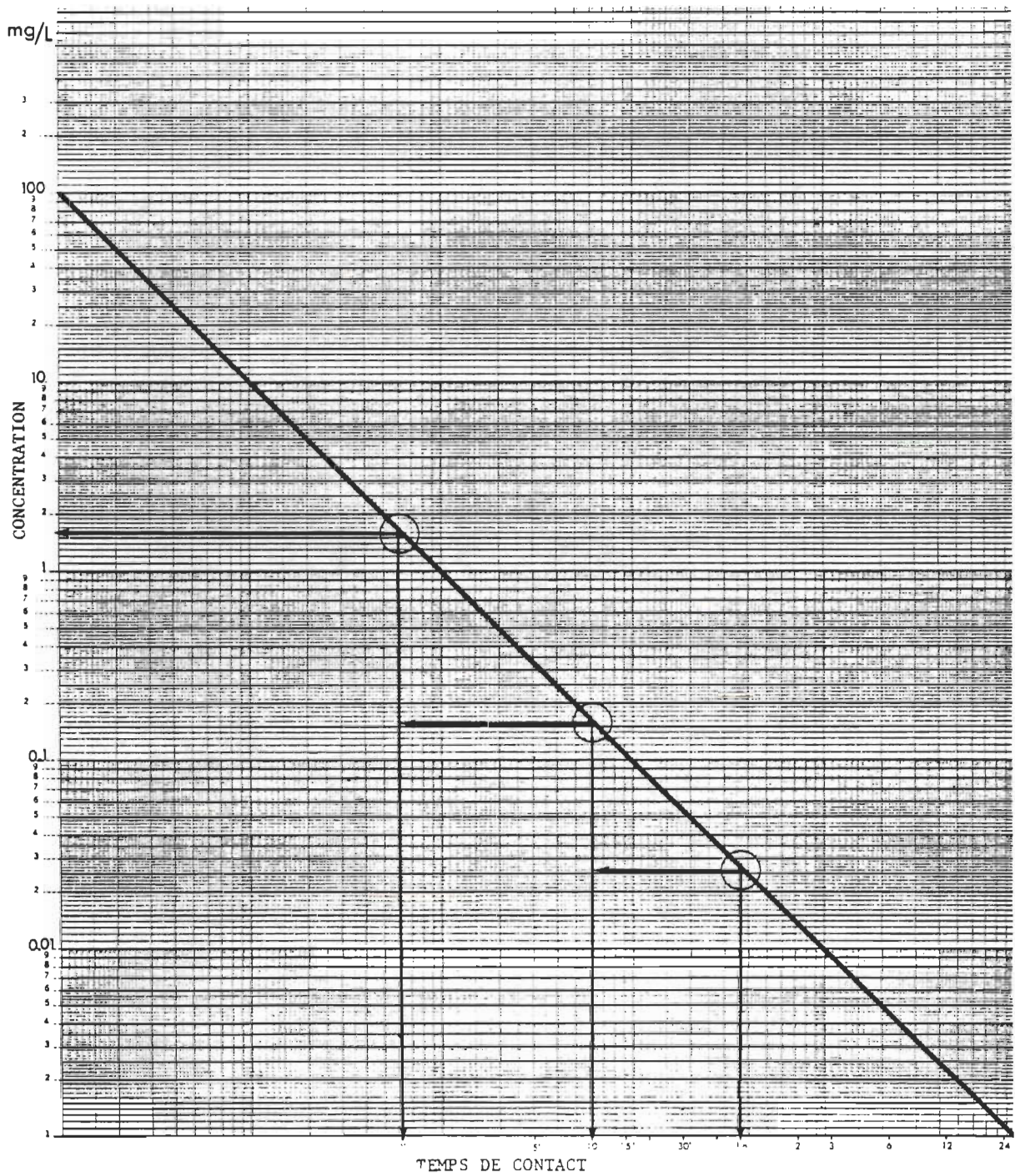


Figure no 32 Exemple d'un calcul de concentration et de temps de contact, à partir d'une droite imposée.

Toxicity Units on Aedes aegypti, la solution de référence étant celle préparée par l'Institut Pasteur et titrant 1000 I.T.U. A.a.), cette représentation graphique peut devenir un outil de comparaison entre les diverses formulations mises en marché par les diverses compagnies. Undeen et Berl (1979), Guillet et Escaffre (1979), Molloy et Jannback (1981) ainsi que Molloy et al. (1981) ont tous démontré qu'il existe une grande différence d'efficacité entre les différents produits.

Cette modélisation permettrait de mieux saisir dans son ensemble ce phénomène très complexe qu'est la toxicité des cristaux de Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis face aux larves de mouche noire. Cependant les résultats ainsi obtenus en laboratoire ne sont pas directement transférables en milieu opérationnel (traitement opérationnel en ruisseau). Le fait d'employer en laboratoire un protocole utilisant des volumes fermés comme support expérimental (béccher 500 ml), ne représente pas directement ce qui se produit en milieu naturel, c'est-à-dire ouvert. En effet, en laboratoire la combinaison "concentration et temps de contact" est représentée schématiquement par une onde carrée (figure #33a). C'est-à-dire que lorsque l'insecticide est présent dans le milieu, il l'est momentanément en quantité fixe pour un temps bien précis. Ce qui est bien différent du type d'onde binomiale négative que l'on rencontre en milieu naturel. Car en un point du cours d'eau, la concentration en insecticide augmente

rapidement jusqu'à un certain maximum pour ensuite diminuer sur une période de temps plus longue (figure #33b). Ce maximum (concentration maximale) et ce temps (temps de contact) dépendent de l'éloignement du point de traitement (le volume sous la courbe ainsi défini doit théoriquement être le même que celui de départ, cela, bien entendu s'il n'y a pas de perte).

A notre avis, l'un des meilleurs moyens qui permettrait le passage du laboratoire au terrain opérationnel, serait d'utiliser des systèmes ouverts dans lesquels il serait possible de simuler les différentes ondes rencontrées en milieu naturel. Ces milieux ouverts seraient constitués de gouttières directement alimentées par de l'eau de gîte naturel, et dans lesquelles il serait possible de contrôler le débit et la vitesse du courant (figure #34). A l'aide de ces résultats, combinés à ceux obtenus en laboratoire, il serait maintenant possible de dresser un protocole de traitement opérationnel, à l'aide duquel un contrôle des populations de mouche noire se ferait de façon optimale.

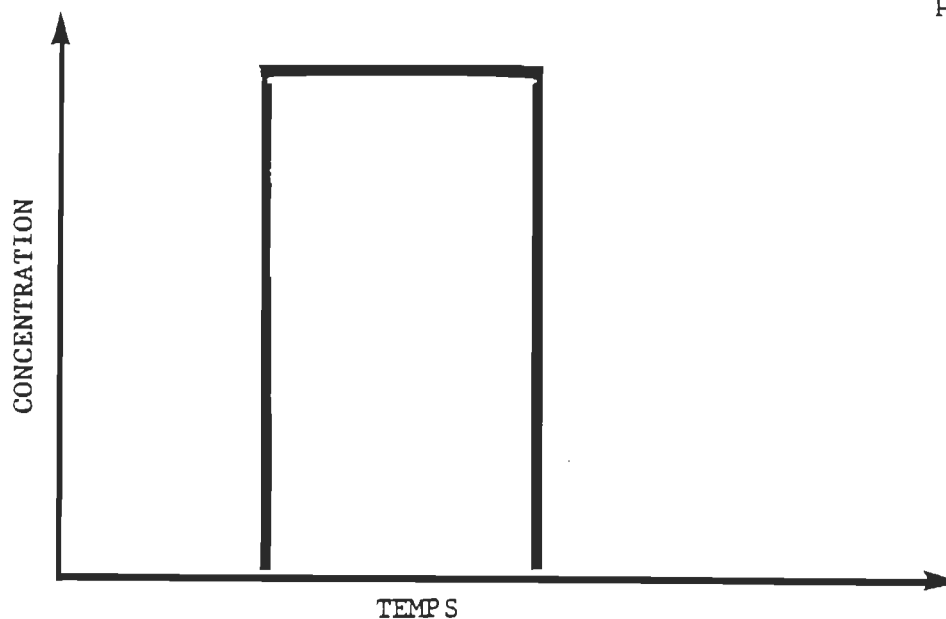


Figure no 33a Représentation schématique de la relation théorique existant entre la concentration et le temps de contact en milieu fermé (b cher en laboratoire) : onde synthétique carrée.

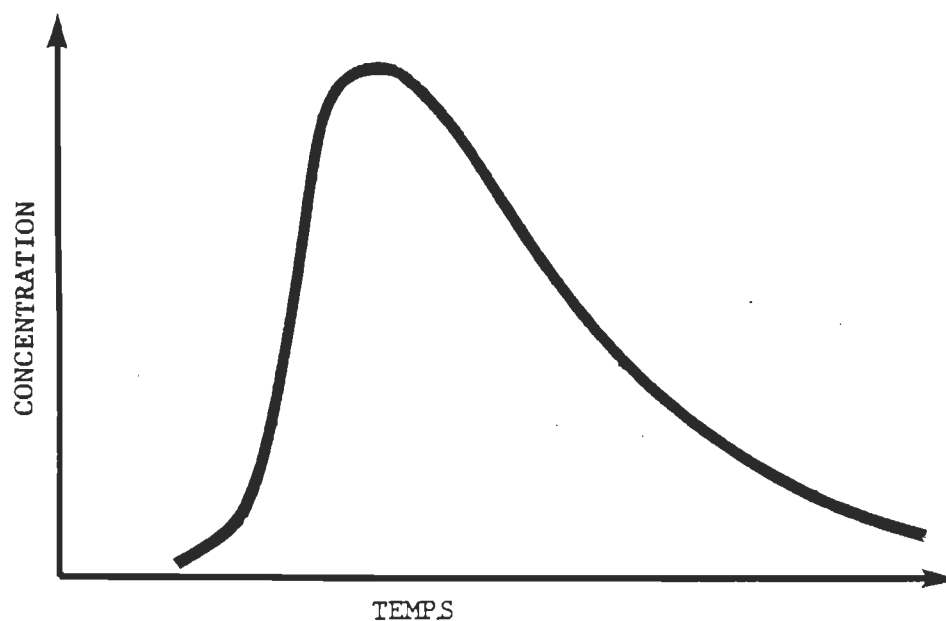


Figure no 33b Représentation schématique de la relation théorique existant entre la concentration et le temps de contact en milieu ouvert (milieu lotique naturel ou artificiel) : onde binomiale négative.

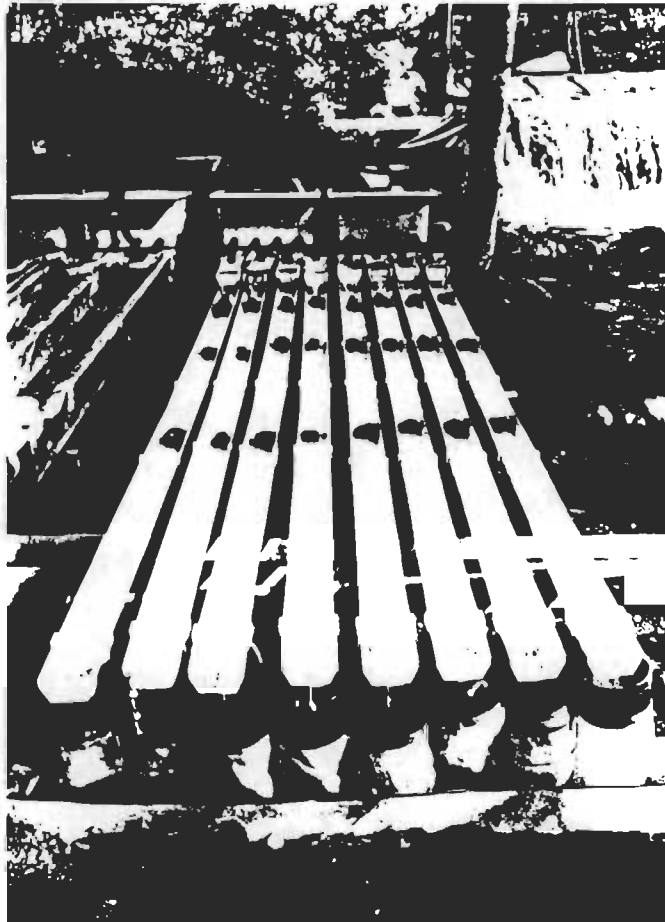


Figure no 34 Installation d'un système de ruisseaux synthétiques (dalles)(milieu lotique artificiel) sur la réserve St-Maurice, été 1984.

CHAPITRE VI

CONCLUSIONS GENERALES

Cette étude avait donc comme but de voir un peu plus clairement un phénomène très complexe en déterminant les différentes relations existant entre la mortalité observée suite à l'action du Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis sur les mouches noires et les principaux paramètres environnementaux pouvant l'influencer. Ce dans le but de permettre une première ébauche d'une modélisation du phénomène sur laquelle s'appuierait un protocole expérimental qui permettrait d'utiliser à son maximum le potentiel larvicide de produit à base de cristaux de Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis. En plus de permettre certaines hypothèses sur l'influence des principaux paramètres environnementaux, ce travail permet de situer dans son ensemble le problème du contrôle biologique des populations de mouche noire par le B.t.i., problème qui est en fait celui de tous les insecticides de type particulière nécessitant l'ingestion pour devenir effectifs. S'inspirant des données de ce travail et des informations puisées dans la littérature, il fut élaboré en s'inspirant de la symbolique utilisée dans les système d' "energy network" élaborés par Odum (Atlas et Bartha, 1981) et les systèmes de "data processing" utilisés en informatique, un organigramme dépeignant dans son ensemble ce problème

particulier (figure #35). On remarque qu'en fait, l'effet toxique est le résultat de l'action de l'activité intestinale (pH, action enzymatique ... etc.) sur une certaine quantité de particules ingérées et ce pendant une certaine période de temps définie par la vitesse du transit intestinal. La quantité de particules ingérées étant directement liée à la disponibilité des particules et principalement à l'activité alimentaire, elle-même conditionnée par les divers états physiologiques induits par l'influence des différentes conditions environnementales. Cette activité alimentaire, composée de diverses sous-activités, se comporte en fait comme un interrupteur couplé à un rhéostat. S'il n'y a pas d'activité alimentaire, aucune particule ne peut être ingérée, de même que suivant le niveau d'activité alimentaire démontré par la larve, celle-ci ingérera une plus ou moins grande quantité de matériel (puisée bien entendu dans un "stock" disponible). Un phénomène intéressant à noter est l'effet de "feed-back" sur l'activité alimentaire via les conditions physiologiques perturbées par un début d'effet toxique. Une diminution de la fréquence de battement des plumeaux céphaliques a été observée chez les larves de Simulium decorum traitées au B.t.i. (TEKNAR) quelques temps après le traitement (15 à 60 minutes selon la température), diminution menant à l'arrêt complet de l'activité alimentaire, puis à la mort des individus (Lavergne, Boisvert et Lacoursière, 1983). Ce phénomène est d'autant plus intéressant qu'il suggère qu'un arrêt de la filtration provoqué volontairement (suivant bien sûr l'ingestion d'une quantité suffisante, près de la "quantité minimale toxique") prolonge le temps réel de contact entre les cristaux

et le tractus intestinal en ralentissant considérablement la vitesse du transit intestinal. Ce dernier étant principalement régit par l'assimilation (bourrage). Gaugler et Molloy (1980) démontrèrent qu'il était possible d'accroître la mortalité de près de 90% lorsque l'activité alimentaire est inhibée après un traitement aux cristaux de B.t.i., effet probablement occasionné par le fait que la particule demeurant plus longtemps dans le tractus digestif, libère plus de toxine.

L'orientation des recherches futures devrait donc s'axer sur la compréhension de l'activité alimentaire face aux diverses conditions environnementales (vitesse du courant, présence de turbulences, présence de particules en suspension, présence de particules nutritives, photopériode, température, pH, ...etc) pour mieux comprendre le phénomène de toxicité du B.t.i., que ce soit au niveau de la quantité minimale de cristaux qu'une larve doit ingérer, ou en terme de molécules de protéine (s) toxique (s) qui doivent être libérées sous forme actives dans l'intestin pour occasionner un effet létal. Ce type d'étude permet de rendre plus complexe notre model et ainsi (espérons-le) le rapprocher de plus en plus de la réalité. Bien que possédant un spectre d'action très étroit (beaucoup plus sélectif que la majorité des insecticides chimiques), on commence à découvrir que le B.t.i. n'est pas très sélectif envers les diverses familles de Diptères et encore moins vis-à-vis les diverses espèces de mouche noire (piqueuses ou non,

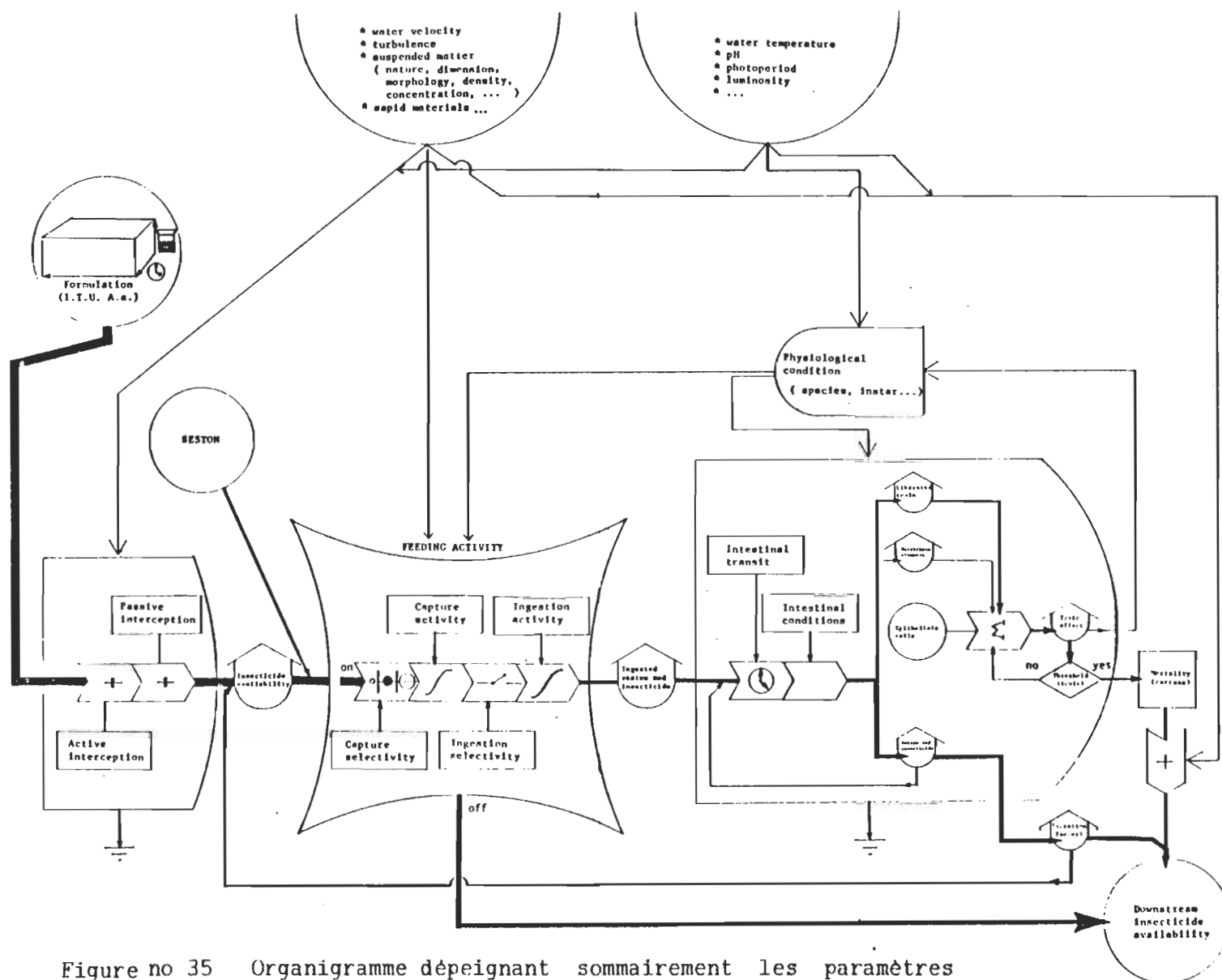


Figure no 35 Organigramme dépeignant sommairement les paramètres influençant le phénomène de toxicité d'un insecticide particulière (*Bacillus thuringiensis* sérovariété *israelensis*) envers les organismes filtreurs (larves de mouches noires: Diptères; Simuliidae).

chez les mammifères ou autres). Combiné au fait que l'on vient de mettre en évidence une résistance au B.t. chez une lignée cellulaire d'insecte (Johnson, 1984), ces données récentes nous poussent à mieux comprendre le phénomène de toxicité du Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis, tout en ne délaissant pas la recherche de nouveaux insecticides microbiologiques plus sélectifs vis-à-vis les espèces pestes de mouche noire. D'un point de vue appliqué, l'étude de l'activité alimentaire en concertation avec celle de l'activité toxique serait très utile, en ce sens que, connaissant le comportement de la cible (larve de mouche noire) nous pourrions déterminer le meilleur projectile qui en combinaison avec une stratégie d'optimisation de l'efficacité larvicide, aboutirait à un contrôle optimal, tout en conservant les contraintes de haute sélectivité.

A ce stade, nous pourrions donc tirer quelques conclusions quant à l'utilisation du Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis au Québec.

Le potentiel larvicide démontré par ce produit (TEKMAR) à basses températures semble donc un atout majeur en ce qui concerne le contrôle des Simuliidae à l'échelle du Québec: le secteur méridional étant principalement le siège de nuisances printanières, tandis que le secteur

septentrional supporte une population de mouches noires se développant à faibles températures tout au long de l'année. Il a de plus été démontré que l'insecticide le plus couramment employé, le téméphos, est peu efficace à basses températures (Back et al., 1979).

La différence de sensibilité au B.t.i. observée chez les deux groupes de mouches noires, suggère donc le monitoring des espèces cibles en fonction de la température du milieu. Ceci nous permettra de mieux choisir les endroits à traiter, ainsi que la période du traitement et la quantité de produit à utiliser.

L'investigation de l'effet du pH du milieu sur le potentiel larvicide du B.t.i., met encore une fois en relief le problème maintenant omniprésent des pluies acides au Québec. Ces dernières risquant de diminuer substantiellement le potentiel toxique de cet entomopathogène, principalement à basses températures. Dans un autre ordre d'idée, cette étude nous permet aussi d'envisager une augmentation de ce même potentiel toxique, par alcalinisation du produit insecticide quelques temps avant son utilisation.

L'étude du potentiel toxique du Bacillus thuringiensis sérovariété israelensis suggère de considérer sérieusement le temps de contact (temps d'épandage), en tant que paramètre prépondérant. Cette conclusion

semble cependant contraire à la tendance actuelle qui préconise un traitement court; tendance probablement influencée par l'idée d'une maximisation du nombre de traitements accomplis, en fonction d'une période de temps minimale. Il serait toutefois intéressant d'intégrer ces considérations d'ordre économique aux concepts d'isodose et d'abaque (figures #31 et 32) dans une optique de maximisation des traitements, nous permettant ainsi de déterminer les temps de contact et quantité de produit engendrant un effet toxique optimal, tout en satisfaisant les paramètres environnementaux et économiques du problème de contrôle.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ATLAS, R.M. et R. BARTHA. 1981. Microbial ecology, fundamentals and applications. Addison-Wesley Publishing Compagny inc., U.S.A., 560 pages.
- BACK, C. 1977. Les mouches noires (Diptères: Simuliidae) de deux ruisseaux des Laurentides. Mémoire de M.Sc., Faculté des Sciences, Université de Montréal, Montréal, 78 pages.
- BACK, C., J. BOISVERT et G. CHARPENTIER. 1984. Selectivity of Bacillus thuringiensis serovar. israelensis for diptera among other stream insects. 40th Annual meeting of the American Mosquito Control Association, March 18-22, Toronto, Canada.
- BACK, C., J.-G. LANOUILLE et A. AUBIN. 1979. Preliminary tests on the use of temephos for the control of black flies (Diptera: Simuliidae) in northern Quebec. Mosquito News 39(4): 762 - 767.
- BOISVERT, J., M. BOILY, G. CHARPENTIER et S. GARZON. 1982. Analysis of delta endotoxin of Bacillus thuringiensis serovar. israelensis by electron microscopy and polyacrylamide gel electrophoresis. IIIrd. International Colloquium on Invertebrate Pathology, September 6-10, Brighton, England.
- BONNEFOI, A., et H. De BARJAC. 1963. Classification des souches du groupe Bacillus thuringiensis par la détermination de l'antigène flagellaire. Entomophaga 8: 223 - 229.

- BRENNER, R.J. et E.W. CUPP. 1980. Rearing black flies (Diptera: Simuliidae) in a closed system of water circulation. Tropenmed. Parasit. 31:247 - 258.
- BRENNER, R.J., E.W. CUPP et M.J. BERNARDO. 1980. Laboratory colonization and life table statistics for geographic strains of Simulium decorum (Diptera: Simuliidae). Tropenmed. Parasit. 31:487 - 497.
- BROWN, A.W. et R.C. PAL. 1973. Resistance des arthropodes aux insecticides. Organisation Mondiale de la Santé. Genève, 260 pages.
- BUCHANAN, R.E., et N.E. GIBBONS. (Editeurs) 1974. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed., Williams and Wilkins, Baltimore, 1264 pages.
- COLBO, M.H. et B.H. THOMPSON. 1978. An effecient technique for laboratory rearing of Simulium verecundum S.& J. (Diptera: Simuliidae). Can. J. Zool. 56:507 - 510.
- COLBO, M.H., et A.H. UNDEEN. 1980. Effect of Bacillus thuringiensis var. israelensis on nontarget insects in stream trials for control of Simuliidae. Mosquito News 40: 368 - 371.
- COLBO, M.H., et R.S. WOTTON. 1981. Preimaginal blackfly bionomics. pp. 209 - 226 dans Marshall Laird (ed.), Blackflies, the future for biological methods in integrated control, Academic Press Inc., London, 399 pages.
- CONSEIL NATIONAL de RECHERCHE du CANADA. 1977. Bacillus thuringiensis: ses effets sur l'état de l'environnement. Comité associé sur les critères scientifiques concernant l'état de l'environnement, publication no. 15386. C.N.R.C., Canada, 127 pages.
- CONSEIL NATIONAL de RECHERCHE du CANADA. 1982. Biting flies in Canada : Health effects and economic consequences. Associate committee on scientific criteria for environmental quality, publication no. 19248. C.N.R.C., Canada, 158 pages.
- CROSSKEY, R.W. 1973. Simuliidae. pp. 109 - 153 dans K.G.V. Smith (ed.), Insects and other arthropods of medical importance, British Museum,

London, 561 pages.

CROSSKEY, R.W. 1981. Geographical distribution of Simuliidae. pp. 57 - 68 dans Marshall Laird (ed.), Blackflies, the future for biological methods in integrated control, Academic Press Inc., London, 399 pages.

CUPP, E.W., J.B. LOK, M.J. BERNARDO, R.J. BRENNER, R.J. POLLACK et G.A. SCOLES. 1981. Complete generation rearing of Simulium damnosum s.l. (Diptera: Simuliidae) in the laboratory. Tropenmed. Parasit. 32:119 - 122.

DANKS, H.V. (ed.) 1979. Canada and its insect Fauna. Memoirs of the Entomological Society of Canada, no.108.

DAUM, R.J. 1969. A revision of two computer programs for Probits Analysis. Bulletin of the Entomology Society of America 16(1): 10 - 15.

DAVIES, D.M. 1978. Ecology and behaviour of adult black flies (Simuliidae): a review. Quaest. Ent. 14: 3 - 12.

DAVIES, D.M. 1981. Predators upon blackflies. pp. 139 - 158 dans Marshall Laird (ed.) Blackflies, the future for biological methods in integrated control, Academic Press Inc., London, 399 pages.

De BARJAC, H. 1977. Qu'est-ce que le Bacillus thuringiensis ?. La défense des végétaux 185: 124 - 135.

De BARJAC, H. 1978. Une nouvelle variété de Bacillus thuringiensis très toxique pour les moustiques : B. thuringiensis var. israelensis sérotype 14. C.R. Hebd. Séanc. Acad. Sci. Paris (D) 286: 797 - 800.

De BARJAC, H., et H. BONNEFOI. 1962. Essai de classification biochimique et sérologique de 24 souches de Bacillus du type B. thuringiensis. Entomophaga 7: 5 - 31.

DEJOUX, C. 1979. Recherches préliminaires concernant l'action de Bacillus thuringiensis israelensis de Barjac sur la faune

d'invertébrés d'un cours d'eau tropical. W.H.O., document WBC/79 721, 11 pages.

DELAFIELD, F.P., H.J. SOMERVILLE et S.C. RITTENBERG. 1968. Immunological homology between crystal and spore protein of Bacillus thuringiensis. J. Bacteriol. 96: 713 - 720.

De LUCCA II, A.J., J. SIMONSON et A. LARSON 1979. Two new serovars to Bacillus thuringiensis: serovars dakota and indiana (serovars 15 and 16). J. of Invertebr. Pathol. 34: 323 - 324.

EDMAN, J.D. et K.R. SIMMONS. 1984. Simuliids (Mainly Simulium decorum Walker). in press

ELOUARD, J.M. et P. ELSSEN. 1977. Variations de l'absorption des particules alimentaires et de la vitesse du transit digestif en fonction de certains paramètres du milieu chez les larves de Simulium damnosum Theobald, 1903 (Diptera, Simuliidae). Cah. ORSTROM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 15: 29 - 39.

ELSEN, P. et G. HEBRARD. 1979. Le transit intestinal chez les larves du complexe Simulium damnosum (Diptera, Simuliidae) en Afrique de l'Ouest. II. Influence de la température de l'eau, de la concentration des particules et de la nature de ces particules. Ann. Soc. belge Méd. trop. 59: 49 - 58.

ELSEN, P., D. QUILLEVERE et G. HEBRARD. 1978. Le transit intestinal chez les larves du complexe Simulium damnosum (Diptera, Simuliidae) en Afrique de l'Ouest. I. Influence du sexe et de l'espèce. Ann. Soc. belge Méd. trop. 58 (3): 209 - 217.

ENGLER, S., J. VON MORAWCSKI, W. SCHNETTER et A. KRIEG. 1980. Pilot-versuch zur Bekämpfung von Schleimückenlarven im Freiland mit einem UV-behandelten Präparat von Bacillus thuringiensis var. israelensis. Anz. Schaedlingskd. 53: 181 - 184.

FAUST, R.M. 1977. Toxins of Bacillus thuringiensis: mode of action. pp. 31 - 43 in J.D. Briggs (ed.) Biological regulation of vectors; the saprophytic and aerobic bacteria and fungi, U.S.D.H.E.W publication no. (NIH) 77 - 1170.

- FAUST, R.M., J.R. ADAMS et A.M. HEIMPEL. 1967. Dissolution of the toxic parasporal crystals from Bacillus thuringiensis var. pacificus by gut secretion of the silkworm, Bombyx mori. J. Invertebr. Pathol. 9: 488 - 499.
- FINNEY, D.J. 1971. Probit Analysis. third edition, Cambridge University Press, Cambridge, Great Britain, 333 pages.
- FINNEY, R.J. et J.E. HARDING. 1982. The susceptibility of Simulium verecundum (Diptera; Simuliidae) to three isolates of Bacillus thuringiensis serotype 10 (darmstadiensis). Mosquito News 42(3): 434 - 435.
- FREDEEN, F.J.H. 1959. Rearing black flies in the laboratory (Diptera: Simuliidae). Can. Entomol. 91:73 - 83.
- FREDEEN, F.J.H. 1969. Outbreaks of the blackfly, Simulium arcticum Malloch, in Alberta. Quaest. Ent. 5: 341 - 372.
- FREDEEN, F.J.H. 1973. Les mouches noires. publication no. 1499, Ministère de l'Agriculture Canada, Canada, 23 pages.
- FREDEEN, F.J.H. 1977. A review of the economic importance of black flies (Simuliidae) in Canada. Quaest. Ent. 13: 219 - 229.
- FROMMER, R.L., S.C. HEMBREE, J.H. NELSON, M. REMINGTON et P.H. GIBBS. 1980. The susceptibility of Simulium vittatum larvae (Diptera: Simuliidae) to Bacillus thuringiensis var. israelensis in the laboratory. Mosquito News 40: 577 - 584.
- FROMMER, R.L., J.H. NELSON, M.P. REMINGTON et P.H. GIBBS. 1981. The influence of extensive aquatic vegetative growth on the larvicidal activity of Bacillus thuringiensis var. israelensis in reducing Simulium vittatum (Diptera: Simuliidae) larvae in their natural habitat. Mosquito News 41: 707 - 712.
- FROSBERG, C.W. 1976. Bacillus thuringiensis : its effects on environmental quality. N.R.C.C., publication no. 15385, 134 pages.

- GAUGLER, R., et D. MOLLOY. 1980. Feeding inhibition in black fly larvae (Diptera: Simuliidae) and its effects on the pathogenicity of Bacillus thuringiensis var. israelensis. Environ. Entomol. 9 : 704 - 708.
- GAUGLER, R., et J.R. FINNEY. 1982. A review of Bacillus thuringiensis var. israelensis (Serotype 14) as a biological control agent of black flies (Simuliidae). pp. 1 - 17 dans D. Molloy (ed.) Biological control of black flies (Diptera: Simuliidae) with Bacillus thuringiensis var. israelensis (Serotype 14): A review with recommendations for laboratory and field protocol, Miscellaneous publications of the Entomological Society of America 12(4): 1 - 30.
- GOLDBERG, L.J., et J. MARGALIT. 1977. A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against Anopheles sergentii, Uranotaenia unguiculata, Culex univittatus, Aedes aegypti and Culex pipiens. Mosquito News 37: 355 - 358.
- GORDON, R. 1975. Biological regulation of vectors: the saprophitic and aerobic bacteria and fungi. U.S. Department of Health, Education and Welfare, publication no. NIH 77-1180, U.S.A..
- GRENIER, P. 1949. Contribution à l'étude biologique des simuliidae de France. Physiol. Comp. Oecol. 1: 165 - 330.
- GUILLET, P., et H. De BARJAC. 1979. Toxicité de Bacillus thuringiensis var. israelensis pour les larves de Simulies vectrices de l'onchocercose. C.R. Hebd. Seances Acad. Sci. Ser. D. Sci. Nat. 289: 549 - 552.
- GUILLET, P., et H. ESCAFFRE. 1979. Evaluation de Bacillus thuringiensis de Barjac pour la lutte contre les larves de Simulium damnosum s.l. II: Efficacité comparée de trois formulations expérimentales. W.H.O., document VBC/79 735, 7 pages.
- GUILLET, P., H. ESCAFFRE, M. OUEDRAOGO et D. QUILLERE. 1980. Mise en évidence d'une résistance au théméphos dans le complexe Simulium damnosum (S. sanctipauli et S. soubiense) en Côte d'Ivoire (zone du programme de lutte contre l'onchocercose dans la région du bassin de la Volta). Cah. O.R.S.T.O.M., Ent. Med. Parasit. 18: 291 - 299.

- HEIMPEL, A.M. 1967. A critical review of Bacillus thuringiensis var. berliner and other crystalliferous bacteria. Annu. Rev. Entomol. 12:287 - 322.
- HEWLETT, P.S. et R.L. PLACKETT. 1979. The interpretation of Quantal Responses in biology. University Park Press, Baltimore, 82 pages.
- HOAR, W.S.. 1983. General & comparative physiology. Third Edition, Prentice-Hall inc., New-Jersey, U.S.A., 851 pages.
- IGNOFFO, G.M., T.L. COUCH, C. GARCIA et J. KROHA. 1981. Relative activity of Bacillus thuringiensis var. kurstaki and B. thuringiensis var. israelensis against larvae of Aedes aegypti, Culex quinquefasciatus, Trichoplusia ni, Heliothis zea and Heliothis virescens. J. of Entomology 74 #2. p. 218 - 222.
- JAMNBACK, H. 1973. Recent developments in control of blackflies. A. Rev. Ent. 18: 281 - 304.
- JAMNBACK, H. 1981. The origins of blackfly control programs. pp. 71 - 74 dans Marshall Laird (ed.) Blackflies, the future for biological methods in integrated control, Academic Press Inc., London, 399 pages.
- KURTAK. 1978. efficacy of filter feeding of black fly larvae (Diptera: Simuliidae). Can. J. Zool. 56: 1608 - 1623.
- LACEY, L.A., et M.S. MULLA. 1977. Evaluation of Bacillus thuringiensis as a biocide of blackfly larvae (Diptera: Simuliidae). J. Invert. Pathol. 30: 46 - 49.
- LACEY, L.A., et B.A. FEDERICI. 1979. Pathogenesis and midgut histathology of Bacillus thuringiensis in Simulium vittatum (Diptera: Simuliidae). J. Invert. Pathol. 33: 171 - 182.
- LACEY, L.A., MIR S. MULLA et H.T. DULMAGE. 1978. Some factors affecting the pathogenicity of Bacillus thuringiensis Berliner against blackflies. Env. Entom. 7: 583 - 588.

- LACEY, L.A., H. ESCAFFRE, B. PHILIPPON, A. SEKETELI et P. GUILLET. 1982. Large river treatment with Bacillus thuringiensis (H-14) for the control of Simulium damnosum s.l. in the onchocerciasis control program. Tropenmed. Parasitol. 33: 79 - 101.
- LAIRD, M. 1978. The status of biocontrol investigation concerning Simuliidae. Envir. Conserv. 5: 133 - 142.
- LARGET, I. et H. De BARJAC. 1981. Spécificité et principe actif de Bacillus thuringiensis var. israelensis. Bull. Soc. Pathol. Exot. 74(2): 216 - 227.
- LARGET, I. et H. De BARJAC. 1981b. Activité comparée de 22 variétés de Bacillus thuringiensis sur trois espèces de Culicidae. Entomophaga 26(2): 143 - 148.
- LAVERGNE, A., J. BOISVERT et J. LACOURSIERE. 1983. Observations visuelles du comportement de larves de Simulium decorum (Diptères; Simuliidae) lors d'un traitement au Bacillus thuringiensis serovar. israelensis (B.T.I.). 51 ième Congrès de A.C.F.A.S., 25 - 27 mai 1983, Trois-Rivières (Québec).
- LEBRUN, Ph., et P. VLAYEN. 1979. Quelques développements récents en matière de lutte microbiologique par l'utilisation de Bacillus thuringiensis. Revue des Questions Scientifiques 150(4): 531 - 545.
- LUTHY, P., G. RABOUD, V. DELUCCHI et M. KUENZI. 1980. Field efficacy of Bacillus thuringiensis var. israelensis. Mitt. Schweiz. Entomol. Ges. 53: 3 - 9.
- MARTOURET, D. 1961. Les toxines de Bacillus thuringiensis et leur processus d'action chez les larves de Lépidoptères. Medelingen van de Landbouwhogeschool en de Opzoekingsstations van de Staat te Gent 26(3): 1116 - 1126.
- MATHER, K. 1965. Analyse statistique en biologie. Gauthier-Villars, Paris, 327 pages.
- MC CAFFERTY, W.P. 1981. Aquatic entomology, the fishermen's and ecologist's illustrated guide to insects and their relatives.

Cedric I. Daven (ced.) Science Books International, Boston (USA),
448 pages.

MC NEELY, R.N., V.P. NEIMANS et L. DWYER. 1979. Wather quality
sourcebook, A gide to water quality parameters. Environment Canada
Cat. no. En 37-54/1979. 88 pages.

MENON, K.K.R., A.S. RAO et S.V. AMONKAR. 1982. A new
mullicrystalliferous Bacillus thuringiensis isolate from diseased
mosquito larvae. Current Sciences 51(16):794 - 795.

MIKKOLA, A.R., G.A. CARLBERG, T. VAORA et H.G. GYLLENBERG. 1982.
Comparison of inclusion in different Bacillus thuringiensis strains
an electron microscope study. F.E.M.S. Microbiology Letters
13(4):401 - 408.

MOLLOY, D. 1983. The susceptibility of chironomids to stream
applications of Bacillus thuringiensis var. israelensis for black
fly control. Society for Invertebrate Pathology, XVI annual
meeting, Cornell University, Ithaca, New-York, August 7 - 11.

MOLLOY, D., et H. JAMNBACK. 1977. A larval blackfly control field trail
using mermithid parasites and its cost implication. Mosquito News
37 :104 - 108.

MOLLOY, D., et H. JAMNBACK. 1981a. Field evaluation of Bacillus
thuringiensis var. israelensis as a blackfly biocontrol agent and
its effects on nontarget stream insects. J. Econ. Entomol. 74: 314
- 318.

MOLLOY, D., et H. JAMNBACK. 1981b. Screening and evaluation of Bacillus
sphaericus and B. thuringiensis serotype H-14 as black fly control
agents. Ann. Rep. to W.H.O., 25 pages.

MOLLOY, D., R. GAUGLER et H. JAMNBACK. 1981. Factors influencing
efficacy of Bacillus thuringiensis var. israelensis as a biological
control agent of black fly larvae. J. Econ. Entomol. 74: 61 - 64.

MOUCHET, J.G., G. QUELENNEC, D. BERL, Y. SECHAN et S. GREBAUT. 1977.
Methodologie pour tester la sensibilité aux insecticides des larves

de Simulium damnosum s.l. . Cha. O.R.S.T.O.M. ser. Ent. Med. et Parasitol. 15(1):55 - 66.

NIE, N.H., C.H. HULL, J.-G. JENKINS, S. STEINBRENNER et D.H. BENT. 1978. Statistical Package of the Social Sciences. 2nd ed. Mc Gram Hill, New-York. 675 pages.

NISBET, M. et J. VERNEAUX. 1970. Composantes chimiques des eaux courantes, discussion et proposition de classes en tant que bases d'interprétation des analyses chimiques. Annales de limnologie T.6. fasc. 22, pp. 161 - 190.

OHBA, M., K. AIZAWA et S. SHIMIZU. 1981. A new subspecies of Bacillus thuringiensis isolated in Japan: Bacillus thuringiensis subsp. tohokuensis (serotype 17). J. of Invertebr. Pathol. 38:307 - 309.

OHBA, M., K. ONO, K. AIZAWA et S. IWANAMI. 1981b. Two new subspecies of Bacillus thuringiensis isolated in Japan: Bacillus thuringiensis subsp. kamamotoensis (serotype 18) and Bacillus thuringiensis subs. tochiensis (serotype 19). J. of Invertebr. Pathol. 38:184 - 190.

PADUA, L.E., M. OHBA et K. AIZAWA. 1981. The isolates of Bacillus thuringiensis serotype 10 with a highly preferential toxicity to mosquito larvae. J. of Invertebr. Pathol. 36(2):180 - 186.

PETERSON B.V. 1978. Simuliidae, pp. 331 - 344 dans R.W. Merritt et K.W. Cummins (ed.) An introduction to the insects of north america, Kendal/Hunt Publishing Compagny, Iowa, U.S.A., 441 pages..

PETERSON, B.V. 1981. Simuliidae, pp. 355 - 391 dans Manuel of nearctic Diptera, Vol. 1, Research Branch Agriculture Canada, Canada, 674 pages.

POINAR Jr, G.O. 1981. Mermithid nematodes of blackflies. pp. 159 - 170 dans Marshall Laird (ed), Blackflies, the future for biological methods in integrated control, Academic Press Inc., London, 399 pages.

RAYBOULD, J.N. 1967. A method of rearing Simulium damnosum theobald

(Diptera: Simuliidae) under artificial conditions. Bull. Wld. Hlth. Org. 31:447 - 453.

RAYBOULD, J.N. 1975. Present progress towards the laboratory colonization of african Simuliidae (Diptera). Tropenmed. Parasit. 26:155 - 168.

RAYBOULD, J.N. 1981. Present progress towards the laboratory colonization of members of the Simulium damnosum complex. p.p. 307 - 318 dans M. Laird (ed.) Blackflies. the future of biological methods in integrated control, Academic Press Inc., London, 399 pages.

RAYBOULD, J.N., C.G. VAJIME, D. QUILLEVERE, T. BARRO et R. SAWADOGO. 1979. The laboratory maintenance and rearing of Simulium damnosum complex species as a research tool for the onchocerciasis control programme. Tropenmed. Parasit. 30:499 - 504.

RITTER, D.G. et E.T. FELTZ. 1974. On the natural occurrence of California encephalitis virus and other arbovirus in Alaska. Can. J. Microbiol. vol. 20: 1359 - 1366.

ROSS, D.H., et D.A. CRAIG. 1980. Mechanisms of fine particle capture by larval black flies (Diptera: Simuliidae). Can. J. Zool. 58: 1186 - 1192.

ROTHFELS, K.H. 1981. Cytotaxonomy: Principles and their application to some northern species-complex in Simulium. p.p. 19 - 30 dans M. Laird (ed.) Blackflies, the future of biological methods in integrated control, Academic Press Inc., London, 399 pages.

SIMMONS, K.R. et J.D. EDMAN. 1981. Sustained colonization of the black fly Simulium decorum Walker (Diptera: Simuliidae). Can. J. Zool. 59:1 - 7.

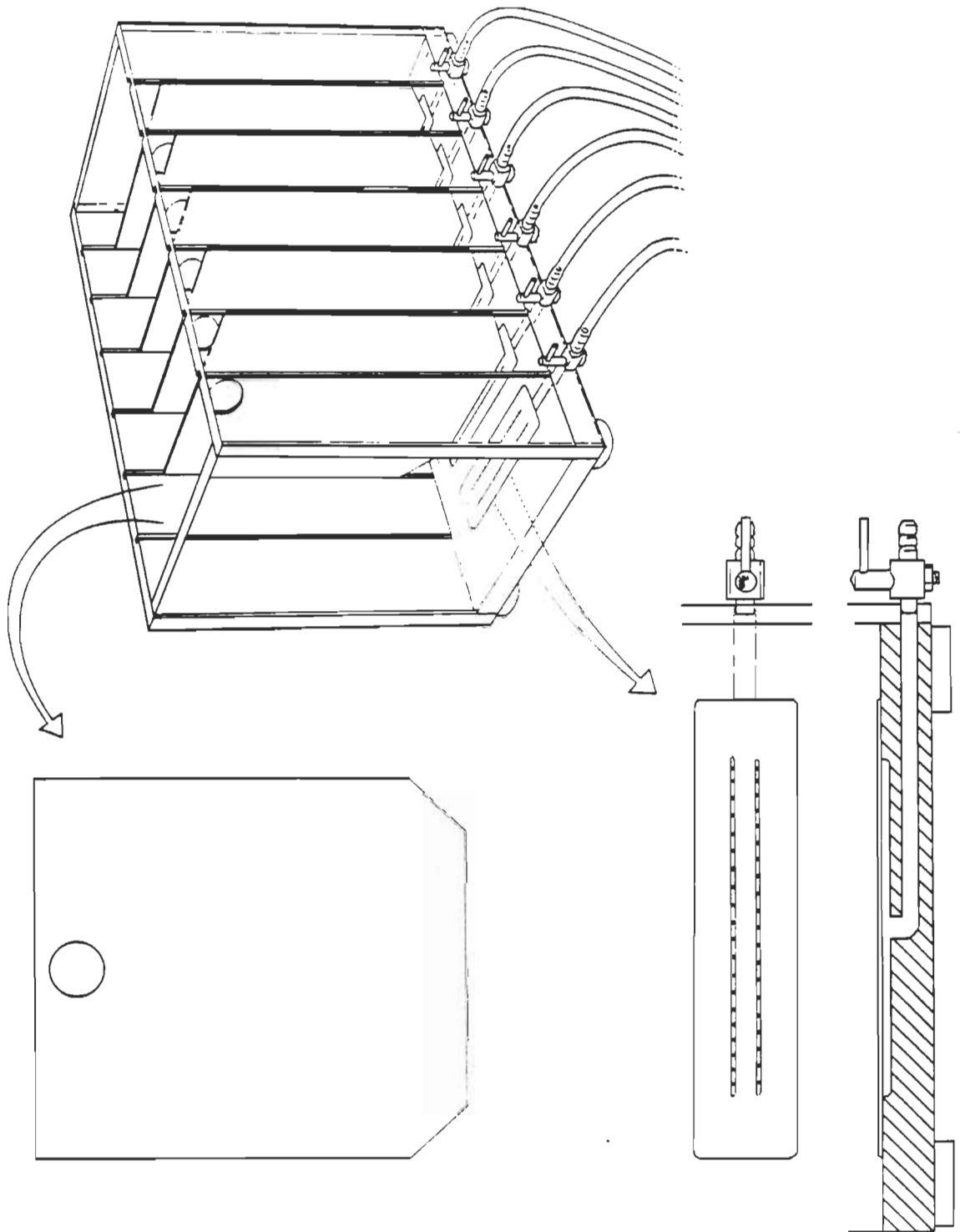
SIMMONS, K.R. et J.D. EDMAN. 1982. Laboratory colonization of the human onchocerciasis vector Simulium damnosum complex (Diptera: Simuliidae) using an enclosed, gravity rearing system. J. Med. Entomol. 19:117 - 126.

- SINEGRE, G.. 1980. Contribution à la normalisation des épreuves de laboratoires concernant des formulations expérimentales et commerciales du sérotype H-14 de B.t. I- Stabilité des suspensions d'épreuve et détection d'éventuels contaminants chimiques toxiques pour les larves de moustiques. Ent. Interdep. Dim. Litt. Méd. Rapport annuel d'activité 1979, 7 pages.
- SINEGRE, G., B. GAVEN et J.L. JULLIEN. 1979. Sécurité d'emploi de sérotype H-14 de Bacillus thuringiensis pour la faune non-cible des gîtes à moustiques du littoral méditerranéen français. W.H.O., document VBC/79 742, 6 pages.
- SINEGRE, G., B. GAVEN et G. VIGO. 1980. Contribution à la normalisation des épreuves de laboratoires concernant des formulations expérimentales et commerciales du sérotype H-14 de B.t. II- Influence de la température, du chlore résiduel, du pH et de la profondeur de l'eau sur l'activité biologique d'une poudre primaire. Ent. Interdep. Dim. Litt. Méd. Rapport annuel d'activité 1979, 8 pages.
- SOMMERVILLE, H.J., Y. TANADA et E. OMI. 1970. Lethal effect of purified spore and crystalline endotoxin preparations of Bacillus thuringiensis on several lepidopterous insects. J. Invert. Pathol. 16: 241 - 248.
- TARSHIS, B. 1968. Collecting and rearing black flies. Annals of the Entomological Society of America 61(5):1072 - 1083.
- TYRELL, D.J., L.I. DAVIDSON, C.A. BULLA Jr et W.A. RAMOSKA. 1979. Toxicity of parasporal crystals of Bacillus thuringiensis subsp. israelensis to mosquitoes. Appl. Environ. Microbiol. 38: 656 - 658.
- UNDEEN, A.H., et W.L. NAGEL. 1978. The effect of Bacillus thuringiensis ONR-60A strain (Goldberg) on Simulium larvae in the laboratory. Mosquito News 38: 524 - 527.
- UNDEEN, A.H., et D. BERL. 1979. Laboratory studies on the effectiveness of Bacillus thuringiensis var. israelensis de Barjac against Simulium damnosum (Diptera: Simuliidae) larvae. Mosquito News 39: 742 - 745

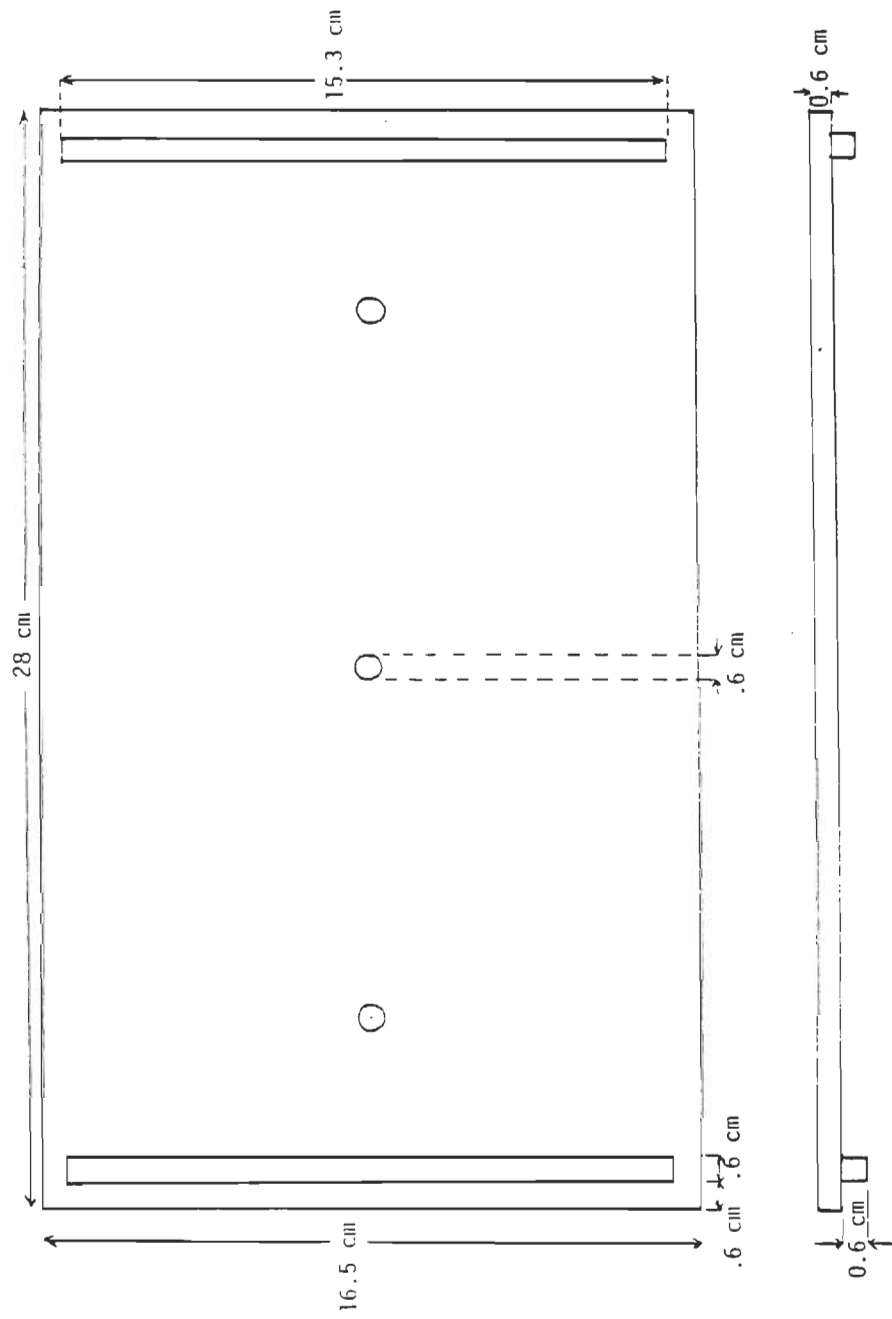
- UNDEEN, A.H., et M.H. COLBO. 1980. The efficacy of Bacillus thuringiensis var. israelensis against blackfly larvae (Diptera: Simuliidae) in their natural habitat. Mosquito News 40: 181 - 184.
- UNDEEN, A.H., H. TAKAOKA et K. HANSEN. 1981. A test of Bacillus thuringiensis var. israelensis de Barjac as a larvicide for Simulium ochraceum, the Central American vector of onchocerciasis. Mosquito News 41: 37 - 40.
- WEISER, J., et J. VANKOVA. 1979. Toxicity of Bacillus thuringiensis israelensis for blackflies and other freshwater invertebrates. pp. 243 - 244 dans J. Weiser (ed.), Proceedings of the International Colloquium of Invertebrate Pathology, Agricultural College Campus, Prague, Czch., 265 pages.
- WEISER, J., et A.H. UNDEEN. 1981. Diseases of blackflies. pp. 181 - 196 dans Marshall Laird (ed.) Blackflies, the future for biological methods in integrated control, Academic Press Inc., London, 399 pages.
- WENK, P. 1981. Bionomics of blackflies adults. pp. 259 - 279 in Marshall Laird (ed.), Blackflies, the future for biological methods in integrated control, Academic Press Inc., London, 399 pages.

ANNEXE

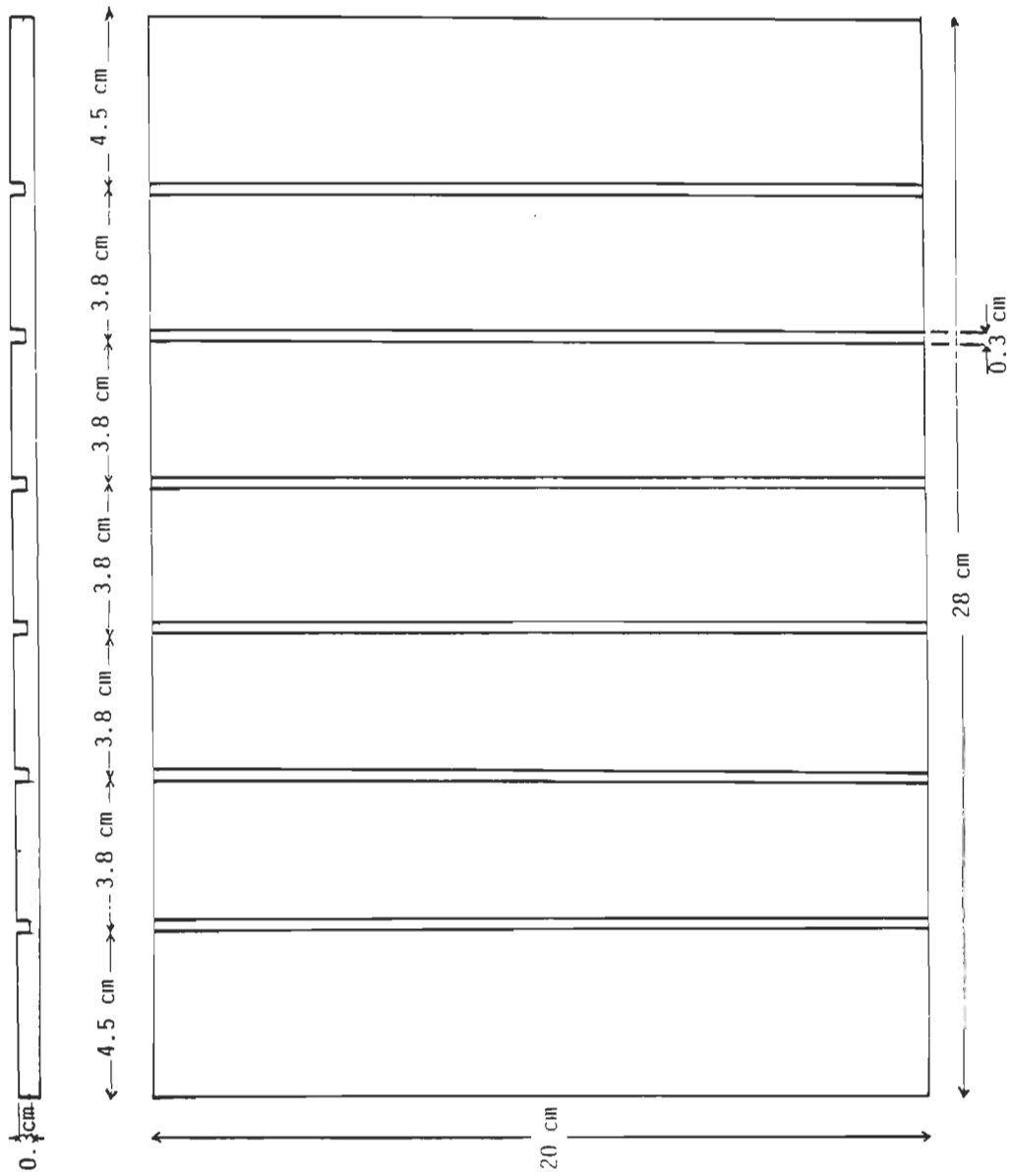
PLAN DU SYSTEME DE MAINTIEN



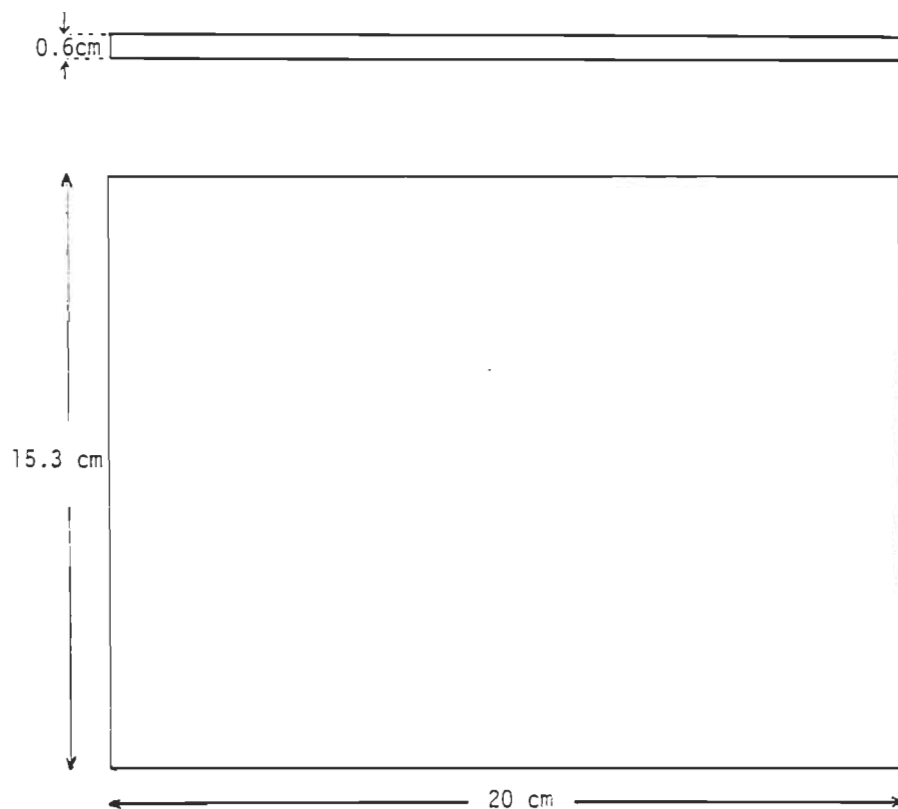
COUVERCLE



FACADE ET PANNEAU ARRIERE



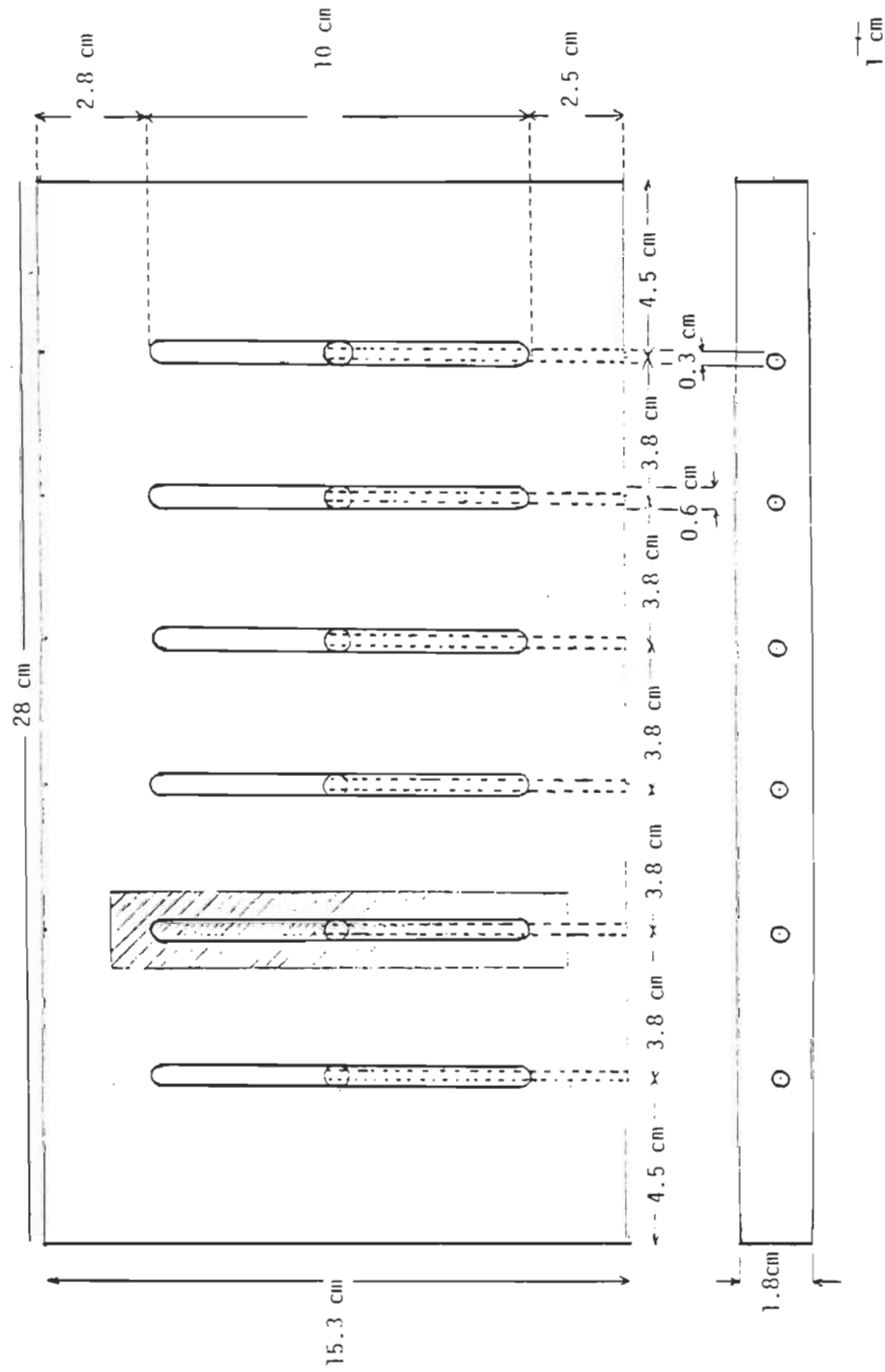
1 cm

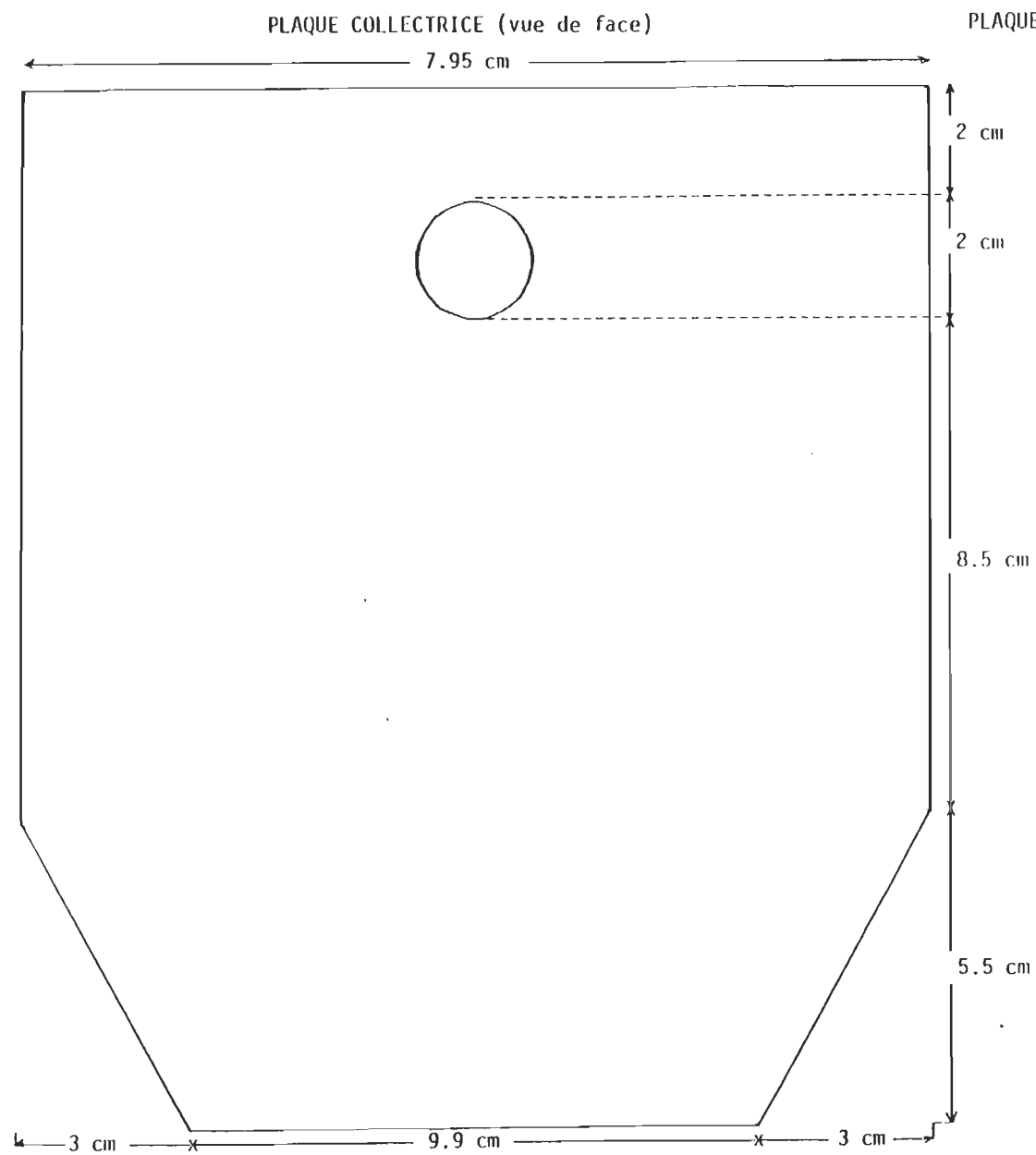


PANNEAUX LATÉRAUX

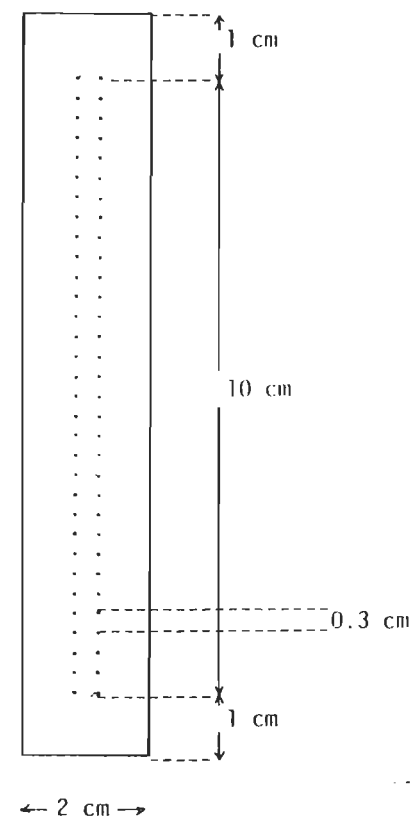
1 cm

FOND





PLAQUE DE DIFFUSION (vue de face)



1 cm